



**Maria João da Silva
Ferreira**

**Toxicidade de solos uraníferos em cogumelos e
plantas comestíveis**



**Maria João da Silva
Ferreira**

**Toxicidade de solos uraníferos em cogumelos e
plantas comestíveis**

dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ecologia, Biodiversidade e Gestão de Ecossistemas, realizada sob a orientação científica da Doutora Ruth Maria de Oliveira Pereira, Investigadora Auxiliar do CESAM, Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Trabalho realizado no âmbito do
projecto POCI/AMB/608999/2004,
financiado pela FCT e pelo Programa
Operacional Ciência e Inovação 2010
(POCI 2010) participado pelo fundo
comunitário Europeu FEDER

Dedico este trabalho à minha família e ao meu pequeno grande SOL.

o júri

presidente

Prof. Doutor Fernando José Mendes Gonçalves
professor auxiliar com agregação da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Ulisses Manuel de Miranda Azeiteiro
professor auxiliar com agregação da Universidade Aberta

Dr. Ruth Maria de Oliveira Pereira (orientador)
investigadora auxiliar do CESAM-Centro de Estudos do Ambiente da Universidade de Aveiro

agradecimentos

No desenvolvimento deste trabalho foram várias as pessoas e entidades que muito contribuíram para a sua realização, possibilitando a sua chegada a bom porto.

Tenho, pois, de agradecer à Universidade de Aveiro e, em particular, ao Departamento de Biologia na pessoa do Professor Doutor Fernando Gonçalves por, mais uma vez, me acolher no seu grupo de trabalho, colocando ao dispor todas as condições e meios necessários para a execução do trabalho.

À orientadora científica, Doutora Ruth Maria de Oliveira Pereira, devo começar por agradecer ter-me convencido, com a sua persistência, a retomar este caminho concluindo um percurso há muito iniciado. A sua grande ajuda e disponibilidade foram sem dúvida um enorme contributo. A sua perseverança e enorme força de vontade um exemplo. Tenho também de agradecer a sua amizade e colaboração noutros projectos não menos importantes e de certo muito especiais.

A todos os colegas de equipa, agradeço a forma calorosa como me receberam e a colaboração prestada o que muito facilitou o trabalho a desenvolver. Dos vários elementos tenho de destacar a Doutora Sara Antunes que ao disponibilizar o seu tempo e conhecimentos, contribuiu grandemente para que este projecto fosse levado a cabo.

À minha família por me ajudar a concluir mais esta etapa. Sem a sua ajuda tudo seria mais difícil. Ao Guilherme e ao Marcelo peço desculpa pelo tempo roubado, mas sei que ficam felizes se eu me sentir mais feliz.

palavras-chave

fitotoxicidade, bioacumulação, *Macrolepiota procera*, *Zea mays*, *Lactuca sativa*, solos uraníferos

resumo

A exploração de minério radioactivo teve uma grande importância económica em Portugal. Nos dias de hoje, devido a alterações nas regras do mercado internacional, várias destas minas cessaram a sua actividade e muitas delas estão apenas a ser monitorizadas de forma a minimizar o impacto ambiental. A mina de urânio da Cunha Baixa (Mangualde, Centro de Portugal) é um desses exemplos. Recentemente foi classificada como área prioritária necessitando de medidas de remediação devido aos potenciais riscos para a saúde humana derivados da exposição a misturas complexas de metais e radiação. Assim, este estudo teve como objectivo avaliar a bioacumulação de metais numa espécie de cogumelos comestíveis, muito apreciada pelos habitantes locais, assim como avaliar os efeitos tóxicos de solos locais contaminados na emergência e crescimento de espécies de plantas (*Lactuca sativa* e *Zea mays*) seguindo um protocolo padronizado para ensaios com plantas terrestres. A elevada bioacumulação de metais, incluindo o urânio, em cogumelos recolhidos junto da mina, levantou preocupações acerca da exposição humana através do consumo destes alimentos. Os efeitos tóxicos registados na emergência e crescimento das duas espécies de plantas testadas reforçaram os dados que têm sido reunidos no âmbito da primeira e da segunda etapa da análise de risco ecológico em curso para a zona. Neste contexto, os dados toxicológicos obtidos com uma bateria de espécies terrestres permite avaliar os riscos colocados pelos solos contaminados.

keywords

fitotoxicity, bioaccumulation, *Macrolepiota procera*, *Zea mays*, *Lactuca sativa*, uranium mine soils

abstract

The exploitation of radioactive ore had a strong economical importance in Portugal. Nowadays, due to changes in the international market rules, several of these mines have ceased their activity and many of them are only being monitored to minimise the environmental impacts. The Cunha Baixa uranium mine (Mangualde, Centre of Portugal) is one of these examples. Recently it was classified as a prior area requiring reclamation measures due to potential risks to human health, derived from exposures to complex mixtures of metals and radiation. Hence, this study aimed to assess the bioaccumulation of metals on a edible mushroom species, very appreciated by local inhabitants, as also to assess the toxic effects of local contaminated soils in the emergence and growth of plant species (*Lactuca sativa* e *Zea mays*) following standard protocol tests. The great bioaccumulation of metals, uranium included, in mushrooms and vegetables collected near the mine, gave rise to concerns about human exposures through the consumption of these food items. The toxic effects recorded in the emergence and growth of the three plants species tested reinforced data that is being collected within the first and the second tiers of a site specific assessment that is being carried out for the area. In this context toxicity data gathered with a battery of species allows an evaluation of risks posed by local contaminated soils.

Índice

Introdução Geral	Pág. 1
Referências bibliográficas	6
Capítulo I	11
“Avaliação da fitotoxicidade de solos de uma mina de urânio abandonada em plantas comestíveis (<i>Zea mays</i> e <i>Lactuca sativa</i>)”	
Resumo	11
1. Introdução	13
2. Material e métodos	15
2.1. Recolha de amostra de solo	15
2.2. Caracterização física e química das amostras de solo	16
2.3. Extracção de metais pesados do solo	17
2.4. Ensaio ecotoxicológicos com plantas superiores	17
2.5. Tratamento estatístico dos dados	19
3. Resultados	20
3.1. Caracterização físico-química dos solos	20
3.2. Ensaio ecotoxicológicos com plantas superiores	23
4. Discussão	30
5. Conclusão	34
Referências bibliográficas	35
Capítulo II	39
“Bioacumulação de metais numa espécie de fungo comestível (<i>Macrolepiota procera</i>) proveniente de uma mina de urânio”	
Resumo	39
1. Introdução	41
2. Material e métodos	42
2.1. Local de amostragem de exemplares de <i>Macrolepiota procera</i> (Scop ex. Fr.)	42
2.2. Caracterização física e química das amostras de solo	44
2.3. Extracção de metais pesados do solo	44
2.4. Tratamento das amostras para determinação do nível de metais bioacumulados	45
2.5. Digestão das amostras e análise dos níveis de metais bioacumulados	45
2.6. Tratamento estatístico dos dados	46
3. Resultados	46
3.1. Caracterização físico-química dos solos	46
3.2. Bioacumulação de metais pesados	48
4. Discussão	51
5. Conclusão	55
Referências bibliográficas	56
Considerações finais	59
Referências bibliográficas	60

Introdução Geral

A mina da Cunha Baixa localizada na província da Beira Alta, distrito de Viseu, no limite NE da povoação da Cunha Baixa, a cerca de 4km de Mangualde, sede do concelho, constituiu um dos mais importantes jazigos uraníferos portugueses. Nesta mina os trabalhos de exploração foram iniciados em 1966 com exploração subterrânea e a céu aberto, em simultâneo. Na última década de actividade (1984 a 1991) processos de lixiviação estática *in situ* foram levados a cabo na zona de exploração subterrânea, para a produção de óxidos de urânio, com o objectivo de recuperar os minerais contidos nas zonas mais pobres do jazigo (Santos Oliveira e Ávila, 1998). Da exploração de urânio são emitidas radiações que, só por si, podem constituir um risco ambiental. Adicionalmente, os diferentes minérios têm na sua composição metais pesados importantes em termos toxicológicos e ecotoxicológicos, contudo foi o processo de lixiviação estática *in situ* que contribuiu de forma mais significativa para um agravamento da contaminação (Pedrosa e Martins, 1999; Carvalho et al., 2007). A acrescer a esta situação é ainda necessário considerar os milhares de toneladas de escórias e lamas, resultantes dos vários processos levados a cabo ao longo dos vários anos de exploração e que, apesar da mina se encontrar encerrada desde 1993, ainda permanecem no local e reforçam o elevado teor em metais do compartimento terrestre (Santos Oliveira e Ávila, 1998; Pedrosa e Martins, 1999; Nero et al., 2003; Pereira et al., 2008). Estes resíduos sólidos, acumulados à superfície, estão sujeitos à acção dos agentes atmosféricos podendo constituir fontes de poluição, uma vez que a escorrência superficial promovida pela precipitação pode transportar os metais e radionuclídeos para a linha de água adjacente. De facto, em estudos efectuados em Novembro de 1996, concluiu-se que existe nesta área mineira um nível de poluição significativo, encontrando-se presentes metais como o Be e U, quer nas águas com origem na exploração mineira quer sobretudo ao nível das águas subterrâneas da área envolvente devido, principalmente, à infiltração dos licores provenientes da lixiviação do minério de urânio, que ainda hoje são responsáveis pela formação de um efluente ácido rico numa mistura complexa de metais, que é armazenado em lagoas provavelmente mal impermeabilizadas. O mesmo estudo indica, assim, medidas limitativas a implementar relativas ao uso doméstico e agrícola das águas, medidas estas que são particularmente importantes se tivermos em conta que a exploração mineira está situada numa área rural, próxima de uma povoação, que utiliza essa água para fins domésticos e agrícolas (Machado, 1998; Pedrosa e Martins, 1999; Carvalho et al., 2007).

Os resíduos resultantes de explorações mineiras são também geralmente uma das principais fontes de poluição do solo e incluem metais pesados como o U, Pb, Cd, Zn, Cu e Mn (Bradshaw et al., 1965; Athar e Ahmad, 2002; Pereira et al., 2008). Os solos existentes nas áreas envolventes de minas constituem reservatórios de metais pesados que não são biodegradáveis e assim persistem por muito tempo no ambiente (Boularbah et al., 2006). Nos solos da área envolvente à mina da Cunha Baixa as concentrações totais de metais como o U, Fe, Al e Mn encontram-se muito acima de critérios de qualidade do solo definidos por diversos países europeus assim como pela Agência de Protecção Ambiental Norte Americana (USEPA) (revistos por Pereira et al., 1998) e outros elementos como o Zn, Co, Ni, Be, Cu e Cd ultrapassam os valores limite particularmente na área de exploração (Pereira et al., 2008). A contaminação com metais pesados é um problema que levanta preocupações ambientais e de saúde pública (Gupta et al., 1996; Xiong, Zhao and Li, 2005; Lázaro et al., 2006; Fernández et al., 2005; Pedrosa e Martins, 1999; Caussy et al., 2003). Na mina da Cunha Baixa a contaminação com U e seus radionuclídeos, além de outros metais, é preocupante para a população local, tornando necessário a determinação dos riscos quer para a saúde humana quer para as comunidades biológicas locais, de modo a que esta informação sirva de suporte à tomada de decisões relativas a acções de mitigação desses mesmos riscos. Entre estas medidas encontra-se a determinação da extensão da contaminação química e radioactiva (Santos Oliveira et al., 1998; Pereira et al., 2008).

Reconhecida a perigosidade das minas abandonadas em geral, e das áreas de exploração de minério radioactivo em particular, o Decreto - Lei nº 198-A/2001, de 6 de Julho (ME, 2001), reconhece interesse público à tarefa de recuperação destas áreas, a qual de acordo com o artigo 3º, deve ter como objectivos, entre outros: a) a eliminação dos factores de risco para a saúde humana, e b) a reabilitação da envolvente paisagística e das condições naturais de desenvolvimento da fauna e da flora locais, tendo como referência os *habitats* anteriores às explorações. No que se refere a este último objectivo, é sabido que o tipo de impactos ecológicos e a severidade dos efeitos determina a probabilidade e a taxa de recuperação ecológica das áreas afectadas (Smith et al., 2006), pelo que a análise de risco surge como uma ferramenta fundamental em todo este processo, na medida em que permite fornecer aos gestores de risco informação de carácter científico sobre os reais riscos a que estão sujeitas as populações locais.

A avaliação do risco de solos contaminados é usualmente realizada através de análises físico-químicas (Eom et al., 2007) e na maioria dos países europeus a qualidade padrão é baseada na concentração total de metais num solo o que permite definir a

extensão da contaminação desse mesmo solo (Gupta et al., 1996). Contudo, esta informação pode ser insuficiente para uma correcta avaliação do impacto ecológico da contaminação, podendo conduzir a uma sobrevalorização dos riscos, pois tal como se tem demonstrado não existem ligações directas entre as concentrações totais de metais no solo e as concentrações de metais biodisponíveis para os seres vivos e passíveis de produzirem efeitos tóxicos (Sterckeman et al., 1996; Caussy et al., 2003; Peijnenburg e Jager, 2003). Por outro lado a análise química não permite integrar efeitos combinados produzidos pela mistura química existente num local poluído. Esta situação prende-se com o facto da mobilidade e biodisponibilidade dos contaminantes serem afectadas por vários factores onde se incluem as propriedades químicas do solo, sendo influenciada por processos de adsorção e complexação com constituintes inorgânicos e matéria orgânica do solo (Gupta et al., 1996; Lagriffoul et al., 1998; Araújo et al., 2002; Fernández et al., 2005; Antunes et al., 2007; Cattani et al., 2006; Gorsuch et al., 2006; Vandenhove et al., 2007a). Assim, na avaliação do risco ambiental torna-se necessário, além das análises químicas das diferentes matrizes ambientais, obter informações a partir de ensaios ecotoxicológicos para determinar a real biodisponibilidade dos contaminantes e assim avaliar o verdadeiro impacto da contaminação nas espécies locais com o objectivo de as proteger assim como a saúde humana (Gupta et al., 1996; Lázaro et al., 2005; Fernández et al., 2005; Banks and Schultz, 2005; Eom et al., 2007).

As plantas superiores são componentes muito importantes dos ecossistemas terrestres uma vez que são produtores primários, estando por isso na base de todas as cadeias tróficas. Adicionalmente estão em contacto directo com o solo, reflectindo contaminações locais. Os metais são absorvidos pelas plantas, com efeitos negativos directos, as quais podem igualmente constituir uma importante via de exposição para os seres humanos, particularmente em populações que consomem produtos regionais (Athar and Ahmad, 2001; Caussy et al., 2003), espécies domésticas e selvagens. Neves et al. (2003) detectaram valores anormais de urânio nas raízes e folhas de plantas de milho, cultivadas nas zonas adjacentes à mina de urânio da Cunha Baixa e regadas com água contaminada com metais e radionuclídeos. Estas plantas representavam assim um perigo quer para os animais que delas se alimentavam, quer para o solo, na medida em que eram utilizadas localmente para fertilização. Contudo, nesta situação particular, estas plantas pareciam não representar um perigo directo para a saúde humana, na medida em que os níveis de metais, urânio incluído, acumulado nos grãos, eram reduzidos.

Desde a década de 80 do século XX que testes toxicológicos com plantas são requeridos pela legislação ambiental e incluídos na monitorização e avaliação ambiental.

A nível Europeu eles são mesmo recomendados como parte integrante de esquemas de análise de risco de solos contaminados (Eisentraeger et al., 2004; Fernández et al., 2005). De facto para uma avaliação mais correcta da fitodisponibilidade e toxicidade dos metais do solo é fundamental o estudo das comunidades das plantas em termos de diversidade de espécies e sintomas de toxicidade (Remon et al., 2005; Chung et al., 2007). Adicionalmente, os ensaios ecotoxicológicos com plantas permitem também avaliar até que ponto a função produtiva do solo está comprometida, uma vez que quer a germinação de sementes quer o crescimento das plantas é afectado pela presença de metais pesados nos solos (Pedersen et al., 2000; Athar e Ahmad, 2001; An et al., 2004; An, 2006; Vandenhove et al. 2006). Contudo, a maioria dos artigos publicados relativos a toxicidade de metais pesados diz respeito a bactérias e animais, não existindo dados suficientes sobre o impacto da toxicidade em plantas superiores (Montvydienė e Marčiulionienė, 2004). Apesar de existirem protocolos padronizados para ensaios de toxicidade com plantas (ASTM, 1999; ASTM, 2001; ISO, 1993; ISO 1995; OECD, 1984; USEPA, 1996; USFDA, 1987a; USFDA, 1987b) a sua aplicação na análise de risco de locais contaminados é ainda reduzida (Eom et al., 2007). Com este mesmo objectivo, além da avaliação dos efeitos tóxicos resultantes da exposição a contaminantes em geral e a metais em particular, também a bioacumulação destes elementos nos tecidos deve ser considerada, para melhor avaliarmos a sua fitodisponibilidade e subsequente potencial para transferência a nível das cadeias tróficas, sobretudo se considerarmos plantas comestíveis (Lagriffoul et al., 1998; Clemente et al., 2005; Remon et al., 2005; Xiong et al., 2006; Lázaro et al. 2006; Vandenhove et al., 2007b; Boularbah et al., 2006).

No processo de acumulação de metais nos tecidos de seres vivos é também necessário considerar os fungos, mais propriamente os corpos frutuosos de cogumelos, uma vez que a bioacumulação nestes seres vivos é muito elevada, sendo mesmo superior à que ocorre nas plantas. Devido a esta capacidade especial para acumular determinados elementos metálicos, a sua utilização na monitorização de poluição ambiental tem sido recomendada por diversos autores (Demirbas, 2000; Kalač e Svoboda, 2000; Svoboda et al., 2000; Demirbas 2002; Řanda e Kučera, 2004; Baeza e Guillén, 2006). Esta avaliação assume particular importância na área da Mina da Cunha Baixa, uma vez que determinadas espécies são muito apreciadas pelo seu sabor e riqueza nutricional, sendo a sua recolha levada a cabo de forma tradicional sem qualquer controlo sobre a qualidade dos espécimes recolhidos. As espécies comestíveis podem assim constituir uma adicional via de exposição humana, levantando questões de saúde pública (Tüzen et al., 1998; Cocchi et al., 2006; Svoboda et al., 2006; Pelkonen et al.,

2006). Assim, tendo por base os pressupostos descritos, este estudo teve como objectivos principais:

- Avaliar a fitotoxicidade de solos da área envolvente da mina de urânio da Cunha Baixa, para espécies padrão e comestíveis de plantas terrestres [alface (*Lactuca sativa* L.) e milho (*Zea mays* L.)], de forma a integrar a informação obtida, na primeira e na segunda etapa da análise de risco em curso para o local.
- Avaliar a biodisponibilidade e subsequente bioacumulação de metais (urânio incluído) numa espécie de cogumelos comestível, muito apreciada pela população local [*Macrolepiota procera* (Scopp.:Fr.) Singer], vulgarmente conhecidos por tortulhos. Este tipo de avaliação permite ainda inferir sobre a potencial transferência de elementos metálicos na cadeia trófica e subsequente exposição humana.

Os objectivos descritos estão consagrados nos dois capítulos que compõem a presente dissertação, precedidos por uma Introdução Geral e complementados por uma secção de Considerações finais, onde é feita a integração dos principais resultados obtidos no presente estudo, na avaliação de riscos ecológicos em curso na mina da Cunha Baixa.

Referências bibliográficas

- An, Y-J., Kim, Y-M., Kwon, T-I., Jeong, S-W., 2004. Combined effect of copper, cadmium, and lead upon *Cucumis sativus* growth and bioaccumulation. **Science of the Total Environment** 326: 85 – 93.
- An, Y-J., 2006. Assessment of comparative toxicities of lead and copper using plant assay. **Chemosphere** 62: 1359 – 1365.
- Antunes, S.C., Figueiredo, D.R., Marques, S.M., Castro, B.B., Pereira, R., Gonçalves, F., 2007. Evaluation of water column and sediment toxicity from an abandoned uranium mine using a battery of bioassays. **Science of the Total Environment** 374: 252 – 259.
- Antunes, S.C., Castro, B.B., Pereira, R., Gonçalves, F., 2008. Contribution for tier 1 of the ecological risk assessment of Cunha Baixa uranium mine (Central Portugal): II. Soil ecotoxicological screening. **Science of the Total Environment** 390: 387 – 395.
- Araújo, M.F., Barbosa, T., Madruga, M.J., Faria, I., 2002. Dispersão de contaminantes e sua transferência no sistema solo-planta nas escombreyras da mina de urânio da Urgeiriça. **Actas do Congresso Internacional sobre Património Geológico e Mineiro, Museu do Instituto Geológico e Mineiro** 567 – 574.
- ASTM, American Society for Testing and Materials, 1999. Standard guide for conducting terrestrial plant toxicity tests. In: Annual Book of Standards. Conshohocken PA, USA: ASTM E1963-98.
- ASTM, American Society for Testing and Materials, 2001. Standard guide for conducting terrestrial plant toxicity tests. In: Annual Book of Standards. Conshohocken PA, USA: ASTM E1963-98.
- Athar, R., Ahmad, M., 2002. Heavy Metal Toxicity: Effect on plant growth and metal uptake by wheat, and on free living Azotobacter. **Water, Air, and Soil Pollution** 138: 165 – 180.
- Baeza, A., Guillén, 2006. Influence of the soil bioavailability of radionuclides on the transfer of uranium and thorium to mushrooms. **Applied Radiation and Isotopes** 64: 1020 – 1026.
- Banks, M.K. and Schultz, K.E., 2005. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. **Water, Air and Soil Pollution** 167 (1-4): 211-219.
- Boularbah, A.S.C., Bitton, G., Abouddar, W., Ouhammou, A., Morel, J.L., 2006. Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. **Chemosphere** 63: 811-817.
- Bradshaw, A.D., McNeilly, T., Gregory, R.P.G., 1965. Industrialization, evolution and the development of heavy-metal tolerance in plants. **Ecology and the Industrial Society. British Ecological Society Symposium** 5: 327 – 343.
- Carvalho, F.P., Madruga, M.J., Reis, M.C., Alves, J.G., Oliveira, J.M., Gouveia, J., Silva, L., 2007. Radioactivity in the environment around past radium and uranium mining sites of Portugal. **Journal of Environmental Radioactivity** 96: 39-46.

- Cattani, I., Fragoulis, G., Boccelli, R., Capri, E., 2006. Copper bioavailability in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) grown in two Italian soils. **Chemosphere** 64: 1972 – 1979.
- Caussy, D., Gochfeld, M., Gurzau, E., Neagu, C., Ruedel, H., 2003. Lessons from case studies of metals: investigating exposure, bioavailability, and risk. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 56: 45 – 51.
- Chung, M.K., Hu, R., Wong, M.H., Cheung, K.C., 2007. Comparative toxicity of hydrophobic contaminants to microalgae and higher plants. **Ecotoxicology** 16: 393 – 402.
- Clemente, R., Walker, D.J., Bernal, M.P., 2005. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): The effect of soil amendments. **Environmental Pollution** 138: 46 – 58.
- Cocchi, L., Vescovi, L., Petrini, L.E., Petrini, O., 2006. Heavy metals in edible mushrooms in Italy. **Food Chemistry** 98: 277 – 284.
- Demirbas, A., 2000. Accumulation of heavy metals in some edible mushrooms from Turkey. **Food Chemistry** 68: 415- 419.
- Demirbas, A., 2002. Metal ion uptake by mushrooms from natural and artificially enriched soils. **Food Chemistry** 78: 89 – 93.
- Eisentraeger, A., Rila, J.-P., Hund-Rinke, K., Rombke, J., 2004. Proposal of a testing strategy and assessment criteria for the ecotoxicological assessment of soil or soil materials. **Journal of Soils and Sediments** 4(2): 123-128.
- Eom, IC, Rast, C, Vber, AM, Vasseur, P, 2007. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 67:190-205.
- Fernández, M.D., Cagigal, E., Vega, M.M., Urzelai, A., Babín, M., Pro, J., Tarazona, J.V., 2005. Ecological risk assessment of contaminated soils through direct toxicity assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 62: 174 – 184.
- Gorsuch, J., Merrington, G., Welp, G., Dwyer, R., Hennelly, M., Schoeters, I., 2006. Assessing risks of metals added to soils in Europe and North America. **Environmental Toxicology and Chemistry** 25(3): 631 – 634.
- Gupta, S.K., Vollmer, M.K., Krebs, R., 1996. The importance of mobile, mobilisable and pseudo total heavy metals fractions in soil for three-level risk assessment and risk management. **The Science of the Total Environment** 178: 11-20.
- ISO - International Organization for Standardization, 1993. Soil quality- determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth, Geneva, Switzerland: ISO 11269-1.
- ISO - International Organization for Standardization, 1995. Soil quality- determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. Geneva, Switzerland: ISO 11269-2.
- Kalač, P., Svoboda, L., 2000. A review of trace elements concentrations in edible mushrooms. **Food Chemistry** 69: 273 – 281.

- Lagriffoul, A., Mocquot, B., Mench, M., Vangronsveld, J., 1998. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). **Plant and Soil** 200: 241 – 250.
- Lázaro, J.D., Kidd, P.S., Martinez, C.M., 2006. A phytogeochemical study of the Trás-os-Montes region (NE Portugal): Possible species for plant-based soil remediation technologies. **Science of the Total Environment** 354: 265 – 277.
- Machado MJC., 1998. Estudo de impacto ambiental em minas abandonadas – comportamento dos metais dissolvidos nas águas da Cunha Baixa e Quinta do Bispo. Secção de Hidroquímica. Instituto Geológico e Mineiro, Lisboa, Portugal.
- ME - Ministério da Economia, 2001. Decreto-Lei nº 198-A/2001, de 6 de Julho. Diário da República. Suplemento. Número 155. I-Série A: 4084-(2)- 4084(7).
- Montvydienė, D., Marčiulionienė, D., 2004. Assessment of Toxic Interactions of Heavy Metals in a Multicomponent Mixture Using *Lepidium sativum* and *Spirodela polyrrhiza*. **Environmental Toxicology** 19: 351 – 358.
- Nero, J.M.G., Dias, J.M.M., Pereira, A.J.S.C., Godinho, M.M., Neves, L.J.P.F., Barbosa, S.V.T., 2003. Metodologia integrada para caracterização do cenário ambiental em minas de urânio desactivadas. Actas do III Seminário de Recursos Geológicos. Departamento de Geologia da UTAD, Vila Real, Portugal.
- Neves, O., Abreu, M.M., Matias, M.J., 2003. Comportamento do urânio, alumínio e manganês no milho cultivado em solos na área da mina de urânio da Cunha Baixa. Memórias e Notícias 2 (Nova Série): 265-278.
- OECD – Organization for Economic Cooperation and Development, 1984. OECD guidelines for testing of chemicals: Terrestrial plants growth test. Paris, France: OECD guideline nr 208.
- Pedersen, M.B., Kjær, C., Elmegaard, N., 2000. Toxicity and Bioaccumulation of Copper to Black Bindweed (*Fallopia convolvulus*) in Relation to Bioavailability and the Age of Soil Contamination. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 39: 431 – 439.
- Pedrosa M.Y., Martins H.M.L., 1999. Hidrogeologia da Mina da Cunha Baixa – Estudo Preliminar. Estudo de Impacto Ambiental em Minas Abandonadas. Instituto Geológico e Mineiro, Lisboa, Portugal.
- Peijnenburg, W.J.G.M., Jager, T., 2003. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 56: 63-77.
- Pelkonen, R., Alfthan, G., Järvinen, O., 2006. Cadmium, lead, arsenic and nickel in wild edible mushrooms. The Finnish Environment 17, Finish Environment Institute, Helsinki, Finland.
- Pereira, R., Antunes, S.C., Marques, S.M., Gonçalves, F., 2008. Contribution for Tier I of the Ecological Risk Assessment of Cunha Baixa uranium mine (Central Portugal): I soil chemical characterization. **The Science of the Total Environment** 390: 377-386.

- Řanda, Z., Kučera, J., 2004. Trace elements in higher fungi (mushrooms) determined by activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry** 259(1): 99 – 107.
- Remon, E., Bouchardon, J.-L., Cornier, B., Guy, B., Leclerc, J.-C., Faure, O., 2005. Soil characteristics, heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill: Implications in risk assessment and site restoration. **Environmental Pollution** 137: 316 – 323.
- Santos Oliveira JM, Ávila PF., 1998. Estudo geoquímico na área da mina da Cunha Baixa (Mangualde, no centro de Portugal). Instituto Geológico e Mineiro, Lisboa, Portugal.
- Smith, R., Pollard, S.J.T., Weeks, J.M., Nathanail, C.P., 2006. Assessing significant harm to terrestrial ecosystems from contaminated land. **Soil Use and Management** 21: 527-540.
- Sterckeman, T., Gomez, A., Ciesielski, H., 1996. Soil and waste analysis for environmental risk assessment in France. **Science of the Total Environment** 178 (3): 63-69.
- Svoboda, L., Havlíčková, B., Kalač, P., 2006. Contents of cadmium, mercury and lead in edible mushrooms growing in a historical silver-mining area. **Food Chemistry** 96: 580 – 585.
- Svoboda, L., Zimmermannová, K., Kalač, P., 2000. Concentrations of mercury, cadmium, lead and copper in fruiting bodies of edible mushrooms in an emission area of a copper smelter and a mercury smelter. **The Science of the Total Environment** 246: 61 – 67.
- Tüzen, M., Özdemir, M., Demirbas, A., 1998. Study of heavy metals in some cultivated and uncultivated mushrooms of Turkish origin. **Food Chemistry** 63(2): 247 – 251.
- USEPA- U.S. Environmental Protection Agency, 1996. Ecological effects test guidelines, seedling emergence tier II. Washington DC, USA: USEPA. OPPTS 850.4225, 712-C-96-363.
- USFDA- U.S. Food and Drug Administration, 1987a. Environmental assessment technical book on seedling growth. Washington DC, USA: USFDA. Technical Assistance Document 4.07.
- USFDA- U.S. Food and Drug Administration, 1987b. Seed germination and root elongation. Washington DC, USA: USFDA. Center for Food Safety and Applied Nutrition, Center for Veterinary Medicine. Technical Assistance Document 4.06.
- Vandenhove, H., Cuypers, A., Van Hees, M., Koppen, G., Wannijn, J., 2006. Oxidative stress reactions induced in beans (*Phaseolus vulgaris*) following exposure to uranium. **Plant Physiology and Biochemistry** 44: 795 – 805.
- Vandenhove, H., Van Hees, M., Wouters, K., Wannijn, J., 2007a. Can we predict uranium bioavailability based on soil parameters? Part 1: Effect of soil parameters on soil solution uranium concentration. **Environmental Pollution** 145: 587 – 595.
- Vandenhove, H., Antunes, K., Wannijn, J., Duquène, L., Van Hees, M., 2007b. Method of diffusive gradients in thin films (DGT) compared with other soil testing methods to predict uranium phytoavailability. **Science of the Total Environment** 373: 542 – 555.
- Xiong, Z.-T., Zhao, F., Li, M., 2006. Lead Toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr.: Effect on Nitrate Assimilation and Growth. **Environmental Toxicology** 147 – 153.

Capítulo 1. Avaliação da fitotoxicidade de solos de uma mina de urânio abandonada em plantas comestíveis (*Zea mays* e *Lactuca sativa*)

Resumo

A mina da Cunha Baixa localizada no distrito de Viseu, constituiu um dos mais importantes jazigos uraníferos portugueses onde decorreram trabalhos de exploração de 1966 a 1991, que conduziram à acumulação de metais pesados, que faziam parte da constituição dos diferentes minérios explorados, e de milhares de toneladas de escórias e lamas, resultantes dos vários processos de mineração e de tratamento do efluente mineiro levados a cabo na área. Todos estes resíduos contribuíram para a contaminação do local e a mina da Cunha Baixa foi recentemente classificada como uma das áreas mineiras abandonadas a requerer uma intervenção prioritária, pelo Despacho conjunto nº242/2002, de 5 de Abril (ME et al., 2002), devido aos potenciais riscos colocados à saúde humana e aos ecossistemas. Neste sentido está a ser desenvolvida uma análise de risco ecológico para a mina de urânio da Cunha Baixa que integra informação de três linhas de evidência: química, biológica e ecotoxicológica. Relativamente ao rastreio ecotoxicológico foram realizados ensaios económicos e de curta duração com invertebrados e microrganismos, mas como, entre outras razões, as plantas superiores são produtores primários e estão na base de todas as cadeias alimentares, podendo constituir uma importante via de exposição para os seres humanos, particularmente devido ao facto da população local utilizar os terrenos circundantes à área mineira para fins agrícolas, e pelo facto da fitorremediação/fitoestabilização poder ser uma medida adequada à reabilitação da zona, considerou-se que os ensaios ecotoxicológicos com plantas terrestres deviam fazer parte da avaliação ecotoxicológica da zona. Assim, este estudo teve como objectivo avaliar a fitotoxicidade dos solos da área envolvente da mina de urânio da Cunha Baixa, para espécies padronizadas e comestíveis, de plantas terrestres, nomeadamente: alface (*Lactuca sativa* L.) e milho (*Zea mays* L.) de forma a integrar a informação obtida, na primeira e na segunda etapa da análise de risco ecológico em curso para o local. Assim, para o efeito foram desenvolvidos ensaios em que se avaliaram os potenciais efeitos na emergência e crescimento das espécies testadas segundo o protocolo padronizado ISO 11269 – 2. Estes ensaios decorreram em duas fases: primeiro os testes foram desenvolvidos com as amostras de solo dos locais

de amostragem sem diluição, e utilizando o solo natural Lufa 2.2., como solo de referência para o ensaio. Numa segunda fase, os solos para os quais se detectaram efeitos significativos nos parâmetros avaliados, relativamente ao solo de referência, foram novamente testados, com as mesmas espécies, mas desta vez utilizando o solo do local I como solo de referência, utilizando-o também para obter uma gama de diluições (100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% e 0%) dos solos teste. Quando se procedeu à caracterização físico-química dos vários solos verificou-se que o solo do local B foi o único que apresentou concentrações de metais, extraíveis com água da chuva artificial, acima de critérios de qualidade do solo (CQS), mas este solo só causou efeitos inibitórios na alface (*Lactuca sativa* L.) e apenas nos testes preliminares que não foram confirmados posteriormente. Já no caso do milho (*Zea mays* L.) foi apenas no solo do local A que se verificou toxicidade apesar de neste solo não se terem registado concentrações de metais acima dos CQS disponíveis. Tal facto poderá ser devido a uma acção conjunta de diversos metais, aos quais a espécie em questão é mais sensível. O milho poderá igualmente ser mais sensível às propriedades do solo A, nomeadamente a acidez. Também se verificou que apenas no solo A não diluído (100%) ocorreu uma inibição significativa dos parâmetros avaliados (crescimento e emergência) para esta espécie. Os resultados sugerem ainda que a mistura da camada de solo superficial, dos locais que apresentaram fitotoxicidade para as espécies avaliadas, com um solo não contaminado, seria suficiente para mitigar os seus impactos ecotoxicológicos. Estes resultados devem ser complementados com ensaios realizados com mais espécies de plantas superiores, de forma a integrar toda a variabilidade de respostas existente.

Palavras chave: fitotoxicidade, minas de urânio, metais, ensaios padronizados, *Lactuca sativa*, *Zea mays*, emergência, crescimento

1. Introdução

No século passado, a exploração de minério radioactivo teve grande significado económico em Portugal. Contudo, actualmente devido a alterações nas regras do mercado internacional de minério, a grande maioria das explorações foi desactivada, estando algumas apenas a serem monitorizadas com vista à mitigação dos impactos. A mina da Cunha Baixa (Mangualde, Centro de Portugal) é um destes exemplos, tendo sido recentemente classificada como uma das áreas prioritárias pelo Despacho conjunto nº242/2002, de 5 de Abril (ME et al., 2002), requerendo por isso uma intervenção urgente, devido aos potenciais riscos colocados à saúde humana e aos ecossistemas, como resultado da exposição a uma complexa mistura de metais presentes nos compartimentos terrestres e aquáticos (Antunes et al., 2007; Antunes et al., 2008; Pereira et al., 2008), assim como a elevados níveis de radiação (Machado, 1998; Pedrosa e Martins, 1999; Carvalho et al., 2007; Pereira et al., 2008). Para as áreas consideradas prioritárias, no que refere à necessidade de intervenção para mitigação dos riscos, o Ministério da Economia estabeleceu, através do Decreto-Lei nº198A/2001, de 6 de Julho (ME, 2001) os seguintes objectivos: i) a recuperação das áreas mineiras abandonadas de forma a mitigar os riscos resultantes das águas/efluentes, dos solos e dos resíduos mineiros contaminados; ii) a criação das condições para o desenvolvimento da fauna e flora locais e ainda iii) a criação das condições que permitam a futura utilização das áreas recuperadas, de acordo com as condições específicas de cada local, para a agricultura, florestamento ou outras actividades económicas ou culturais, como por exemplo o turismo.

Neste cenário, a análise de risco aparece como uma ferramenta extremamente útil para uma avaliação cientificamente fundamentada dos riscos colocados pela área mineira da Cunha Baixa, em particular, de forma a suportar estratégias de reabilitação de maior especificidade para o local. Adicionalmente, a análise de risco ecológico permite inferir sobre a exposição dos seres humanos a solos poluídos com metais e/ou radionuclídeos, e os possíveis perigos que podem daí advir, uma vez que para determinar o risco para a saúde humana é necessário perceber as várias vias que os contaminantes podem seguir do solo até aos humanos, sendo que a principal via de entrada é através da cadeia alimentar onde as plantas como seres produtores têm um papel fundamental (Gupta et al., 1996).

Os esquemas europeus para a análise de risco ecológico de locais contaminados (Weeks e Comber, 2005; Mesman et. al., 2006), incorporam o modelo da TRIAD proposto

pela primeira vez por Long e Chapman (1985) e por Chapman, (1990), para os sedimentos, o qual integra informação de três linhas de evidência: a química, a biológica (inventariações de comunidades locais) e a ecotoxicológica. A informação referente às três linhas de evidência é integrada através de etapas sucessivas, sendo possível no final de cada uma fazer a avaliação preliminar dos riscos e o possível abandono do processo quando não são registados riscos significativos. No âmbito da primeira etapa do processo de análise de risco da mina de urânio da Cunha Baixa, foi efectuada uma avaliação química do compartimento terrestre baseada na comparação das concentrações totais de metais (extraídas com *aqua regia*) e das concentrações potencialmente mobilizáveis (extraídas através de um processo suave com água da chuva artificial) presentes no solo, com critérios de qualidade disponíveis para diferentes países Europeus e também propostos pela USEPA (revistos por Pereira et al., 2008). Esta avaliação foi complementada por um rastreio ecotoxicológico através da realização de ensaios económicos e de curta duração com invertebrados e microrganismos, como os ensaios de evitamento com *Eisenia andrei* Bouché, ensaios com elutriados de solo com *Daphnia magna* e *D. longispina* e com a bactéria *Vibrio fischeri* (Microtox® basic test) e ainda com a mesma bactéria, ensaios com a matriz sólida (Microtox® solid-phase test) (Antunes et al., 2008). Contudo, uma vez que: i) a fitorremediação/fitoestabilização poderá ser uma medida adequada à reabilitação da zona; ii) a população local utiliza os terrenos circundantes à área mineira para fins agrícolas e, iii) a agricultura e a silvicultura são possíveis usos futuros que se poderão dar às áreas mineiras abandonadas, considera-se que os ensaios ecotoxicológicos com plantas terrestres devem fazer parte da avaliação ecotoxicológica da zona, de forma a integrar informação sobre os impactos da contaminação na função produtiva do compartimento solo (Eisentraeger et al., 2004). Os ensaios de emergência e crescimento de plântulas (14 dias após emergência) têm sido considerados como ensaios agudos, pelo que são adequados à fase de rastreio de avaliações específicas de locais contaminados (Van Assche et al., 2002).

Assim, este trabalho teve como objectivo fazer uma avaliação da toxicidade dos solos da área mineira da Cunha Baixa para espécies de plantas terrestres padrão e comestíveis, como a alface (*Lactuca sativa* L.) e o milho (*Zea mays* L.), de forma a integrar os dados obtidos para o nível trófico dos produtores no cálculo dos riscos a efectuar no final da etapa 1 do processo de análise de risco ecológico em curso para a área.

2. Material e Métodos

2.1. Recolha de amostras de solo

Na mina de urânio da Cunha Baixa (Mangualde, distrito de Viseu) foram seleccionados 10 locais de amostragem, compreendendo a zona da mina e área envolvente, identificados com letras de A a J de acordo com a distância à área de exploração (Figura 1). Assim, o local A localizava-se na zona de exploração subterrânea, utilizada posteriormente para lixiviação *in situ* de minério pobre; os locais B, C e D ainda na mesma zona mas em áreas actualmente utilizadas para a deposição de lamas provenientes da lagoa de tratamento do efluente mineiro; o local E foi seleccionado na área envolvente à mina junto a terrenos de cultivo; o local F num pinhal onde até há pouco tempo o efluente tratado escorria para se juntar a um pequeno ribeiro; o local G nas margens da lagoa de tratamento; o local I junto a uma lagoa que se formou na zona de exploração a céu aberto, mas que foi abandonada devido à pobreza do minério extraído, e que actualmente se encontra cheia com água não contaminada, por acção da precipitação (Antunes et al., 2007), tendo sido por isso considerada como uma lagoa de referência e, por último, o local J numa floresta mista de pinheiros e carvalhos, localizado a 3km a norte da mina, à entrada da povoação da Cunha Baixa. Estes dois últimos locais foram seleccionados como potenciais locais de referência devido à sua distância à mina, o que se veio a confirmar com base na sua caracterização físico-química e ecotoxicológica (Pereira et al., 2008; Antunes et al., 2008).

Em cada um dos locais descritos foram recolhidas amostras compostas de solo superficial (0-15 cm), que foram posteriormente secas, à temperatura ambiente, e crivadas, por um crivo de malha igual a 2mm. A fracção <2mm foi armazenada em sacos de polietileno a 4°C, para posterior utilização nos ensaios de toxicidade com plantas.

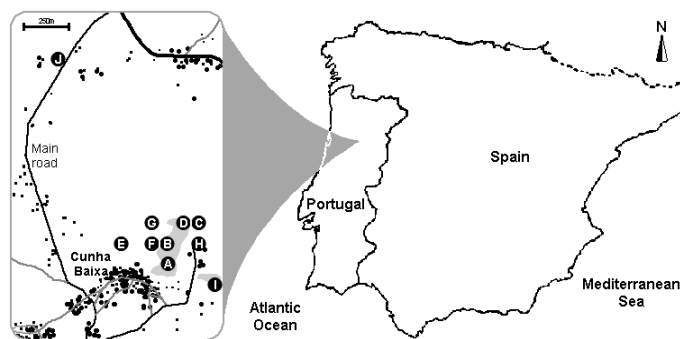


Figura 1 – Localização geográfica da mina de urânio da Cunha Baixa e distribuição dos locais de amostragem (Pereira et al., 2008; Antunes et al., 2008).

2.2. Caracterização física e química das amostras de solo

A determinação dos parâmetros físico-químicos foi efectuada em 10 réplicas de solo, recolhidas em cada local de amostragem, que sofreram o mesmo tratamento prévio que amostras recolhidas para os ensaios ecotoxicológicos (ver secção 2.1.). O pH (H_2O) e a condutividade do solo foram determinados numa suspensão solo-água (1:5 m/v) de acordo com o método descrito em FAOUN (1984). Para o efeito, cada réplica de solo (10g) foi suspensa em 50ml de água desionizada, em frascos de polipropileno, e mantida com agitação magnética durante 30min. Terminado este período as misturas foram deixadas a repousar durante 1h após o que o pH da solução sobrenadante foi medido com um medidor de pH pré-calibrado WTW 330/SET-2. A condutividade foi determinada na mesma suspensão, após 24h de repouso, de forma a permitir a deposição do grosso das partículas do solo (FAOUN, 1984), com o medidor de condutividade LF 330/SET. A humidade do solo foi determinado pela perda de peso após secagem a 105°C, durante 24h. E o conteúdo em matéria orgânica foi determinado na amostra seca pela perda de peso após combustão a 450°C durante 8h (SPAC, 2000). A capacidade de retenção de água foi determinada utilizando três réplicas seleccionadas ao acaso para cada local (ISO, 2005). As amostras de solo foram colocadas em frascos de polipropileno que foram posteriormente imersos em água destilada, durante 3 h. Após este período os frascos foram colocados em cima de papel absorvente, durante 2h, de forma a drenarem o excesso de água. A capacidade de retenção de água foi determinada pesando cada réplica antes e depois de secas a 105° C até à estabilização do peso (ISO, 2005).

2.3. Extracção de metais pesados do solo

A extracção de metais do solo foi efectuada com água da chuva artificial, seguindo a metodologia adaptada de Pereira et al. (2008) com o objectivo de simular a biodisponibilização que pode ocorrer em ambiente natural, como resultado do encharcamento do solo por acção da precipitação que sobre ele recai. Para o efeito foram utilizadas 3 réplicas de solo por local de amostragem. Os extractos foram obtidos misturando 15g de solo crivado (fracção <2mm) com 200ml de água da chuva artificial [NaNO₃ 4,07 mg/l, NaCl 3,24 mg/l, KCl 0,35 mg/l, CaCl₂·2H₂O 1,65 mg/l, MgSO₄·7H₂O 2,98 mg/l, (NH₄)₂SO₄ 3,41 mg/l – (Laegdsmand et al., 1999)]. As misturas foram mexidas duas vezes por dia, com a ajuda de uma vareta de vidro. Após 8 dias as réplicas foram deixadas a repousar e o sobrenadante de cada réplica foi decantado e posteriormente filtrado, com um filtro Whatman GF/C (45µm de porosidade e 47mm de diâmetro). As amostras filtradas foram acidificadas com ácido nítrico até atingir valores de pH inferiores a 2, de forma a reduzir o fenómeno de adsorção às paredes do recipiente. Para obtenção de brancos dos reagentes seguiu-se exactamente o mesmo procedimento, sem a presença do solo. A determinação de metais nos filtrados e nos brancos foi efectuada por espectrometria de massa com plasma induzido acoplado (ICP-MS).

2.4. Ensaios ecotoxicológicos com plantas superiores

Os ensaios ecotoxicológicos com plantas superiores, para avaliação dos potenciais efeitos dos solos contaminados, recolhidos na área da mina da Cunha Baixa, na emergência e crescimento de plantas comestíveis, seguiram o protocolo padronizado ISO 11269 – 2 (ISO, 1995). De acordo com este protocolo foram seleccionadas duas espécies teste: uma monocotiledónea (*Zea mays* L.) e uma dicotiledónea (*Lactuca sativa* L.). A selecção destas espécies prendeu-se também com o facto de serem espécies comestíveis, ou utilizadas na produção de alimentos de origem vegetal, cultivadas na zona. Os ensaios foram primeiramente realizados apenas com as amostras de solo da área mineira sem diluição, utilizando o solo LUFA 2.2 (Standard LUFA 2.2, Agricultural Research Centre, Speyer, Germany), como solo de referência para o ensaio. Para cada amostra de solo, e para o solo de referência, foram preparadas 4 réplicas. Assim 250g da fracção <2mm foram colocadas em vasos de poliestireno (11,7 cm de diâmetro da base e 6,2 cm de altura). Na base de cada vaso foi aberto um pequeno orifício circular por onde

se fez passar uma corda de material absorvente para manter o solo permanentemente humedecido. Esta corda estava mergulhada num segundo vaso com água destilada, colocado na base do vaso com solo (Figura 2a-b). A cada vaso com solo, para ambas as espécies, foram adicionadas vinte sementes e os vasos foram mantidos em condições de temperatura ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$), fotoperíodo ($16\text{h}^{\text{L}}:8\text{h}^{\text{E}}$) e luminosidade (10 000 lux) constantes (Figura 3).

Numa segunda fase, para os solos em que se detectaram efeitos significativos relativamente ao solo de referência, foram realizados novos ensaios ecotoxicológicos com as mesmas espécies, mas desta vez utilizando o solo do local I como solo de referência, com o qual se realizaram todas as diluições. Como o protocolo padronizado ISO 11269 – 2 (ISO, 1995) refere que para minimizar o erro se deve considerar sobretudo o peso seco, foram os solos A (*Zea mays*) B e E (*Lactuca sativa*) a serem utilizados para novos ensaios. Nestes ensaios foi testada uma gama de concentrações (100%, 75%, 50%, 25% e 12,5%) obtidas por diluição da amostra de solo com o solo do local I. As condições do ensaio seguiram o descrito acima. O número de plantas emergentes por vaso foi registado diariamente. Apenas 5 exemplares foram deixados em cada vaso, retirando-se sempre as restantes ao longo do ensaio. Catorze dias após 50% das sementes do controlo (solo de referência) terem emergido deu-se por terminado o teste. As partes aéreas das plantas, num máximo de 5 por vaso, foram colhidas e o seu peso fresco determinado. Foram depois colocadas na estufa a 70°C , durante 16h, de forma a determinar o peso seco.

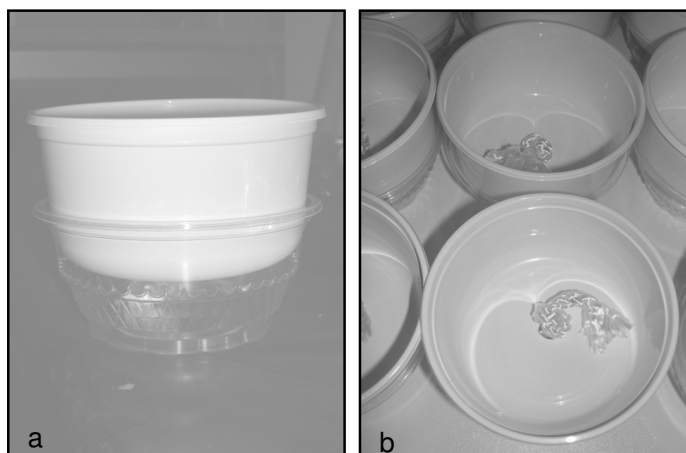


Figura 2a-b – Vasos utilizados nos ensaios de emergência de sementes com corda absorvente para manutenção da humidade do solo.

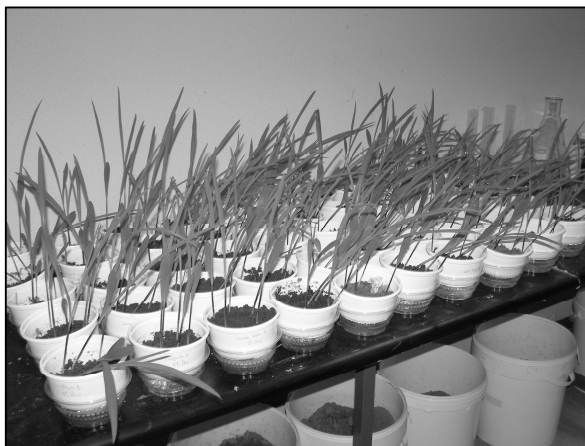


Figura 3 – Ensaio preliminar com *Zea mays* L. a decorrer.

2.5. Tratamento estatístico dos dados

De forma a comparar os diferentes solos, no que refere às concentrações de metais extraídos com água da chuva artificial, foi realizada uma análise de variância multivariada. (MANOVA), a qual permite comparar as concentrações médias de todos os metais extraídos, para os diferentes locais, mantendo a magnitude do erro do tipo I (Zar.1999). O parâmetro estatístico reportado é o valor de “Pillai’s trace”, por ser o mais aconselhado por diversos autores para uma utilização geral (Zar, 1999). A MANOVA foi precedida por Análise de variância (ANOVA) de uma via, para avaliar as diferenças significativas entre locais, no que diz respeito a cada um dos parâmetros físicos e químicos testados. Sempre que se registaram diferenças significativas foi realizado um teste de comparações múltiplas (teste de Tukey) para avaliar que locais diferiam de facto entre si (Zar, 1999).

De forma a investigar a existência de diferenças significativas de cada um dos tratamentos em relação ao controlo, no que refere aos parâmetros avaliados [emergência e crescimento (peso fresco e peso seco)] foram realizadas análise de variância (ANOVA) - de uma via. Sempre que se registaram diferenças significativas realizou-se um teste de Dunnet com o objectivo de verificar que tratamentos, mais especificamente, diferiam do controlo (Zar, 1999).

3. Resultados

3.1. Caracterização físico-química dos solos

A tabela 1 descreve os resultados obtidos para parâmetros físico-químicos avaliados nos diferentes solos da área da mina da Cunha Baixa. A acidez do solo parece não estar relacionada com a actividade mineira, uma vez que os valores mais baixos de pH, estiveram associados quer com os locais mais afastados da área mineira (J, $\text{pH}=4,97\pm0,13$), quer com áreas adjacentes [I ($\text{pH}=5,56\pm0,09$) e E ($5,32\pm0,10$)] ou ainda com a própria zona de exploração subterrânea (A, $\text{pH}=4,81\pm0,06$). Por outro lado, os locais de deposição de lamas da lagoa de tratamento do efluente [B ($7,76\pm0,07$), D ($7,65\pm0,07$) e G ($7,65\pm0,03$)] mostraram valores de pH próximos da neutralidade. O tratamento tradicionalmente aplicado ao efluente consiste sobretudo na adição de carbonato de cálcio, para neutralização, e de sulfato/cloreto de bário para precipitação de metais como o urânio, rádio e de radionuclídeos. Assim as lamas resultantes são ricas em complexos iónicos o que justifica igualmente os elevados valores de condutividade que foram registados nos mesmos locais [B ($2280,0\pm0,0$), D ($656,67\pm5,77$) e G ($803,00\pm50,51$)]. Os solos de dois destes locais de amostragem (B e D), revelaram ser os que têm uma maior capacidade de reter a água, na medida em que foram os que mostraram maiores conteúdos em água ($11,77\pm0,0\%$ e $10,57\pm0,19\%$), assim como uma maior capacidade de retenção da água ($61,16\pm2,76\%$ e $49,0\pm1,26\%$). Relativamente ao conteúdo em matéria orgânica, verificou-se que os solos junto à zona de exploração subterrânea (A e C), do pinhal que sofre as escorrências da lagoa de tratamento (F) e das margens da lagoa de tratamento (G), possuíam um baixo teor em matéria orgânica ($<2\%$). Nos locais D (junto à zona de exploração), E (perto de terrenos de cultivo) e H, o teor em matéria orgânica dos solos revelou ser intermédio ($2\%\leq \text{MO} <6\%$). Nos locais B (na zona de exploração), I e J (locais de referência) o conteúdo em matéria orgânica foi elevado ($\geq 6\%$). Esta classificação baseia-se na apresentada em USEPA (2004).

A análise de variância multivariada (MANOVA) registou diferenças significativas entre locais no que refere aos parâmetros físicos e químicos avaliados (Pillai's trace= $4,8613$, d.f.= 45 ; $p=0,000$). De acordo com as análises univariadas realizadas posteriormente (Tabela 2), a condutividade e o conteúdo em água, seguidos pelo pH, foram os parâmetros mais determinantes para as diferenças significativas entre solos, como se pode observar pelos valores estatísticos de F, mais elevados.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos avaliados para os solos da área da mina da Cunha Baixa, nos diferentes locais de amostragem definidos. (média \pm DEVP).

	pH	Condutividade (mS cm ⁻¹)	Conteúdo em matéria orgânica (%)	Conteúdo em água (%)	Capacidade de retenção da água (%)
Locais de amostragem					
A	4,81 \pm 0,06	66,83 \pm 2,17	0,78 \pm 0,06	5,71 \pm 0,16	19,57 \pm 0,96
B	7,76 \pm 0,07	2280,0 \pm 0,0	6,5 \pm 0,06	11,77 \pm 0,0	61,16 \pm 2,76
C	6,05 \pm 0,02	56,73 \pm 30,81	1,02 \pm 0,35	1,51 \pm 0,17	24,08 \pm 0,41
D	7,65 \pm 0,07	656,67 \pm 5,77	4,40 \pm 0,12	10,57 \pm 0,19	49,0 \pm 1,26
E	5,32 \pm 0,10	68,20 \pm 8,61	4,40 \pm 0,17	10,56 \pm 0,39	17,88 \pm 0,86
F	6,56 \pm 0,05	233,33 \pm 5,77	1,16 \pm 0,14	1,25 \pm 0,15	24,13 \pm 0,72
G	7,65 \pm 0,03	803,00 \pm 50,51	1,5 \pm 0,05	2,35 \pm 0,01	29,68 \pm 0,91
H	6,24 \pm 0,02	48,23 \pm 1,60	3,24 \pm 0,23	1,54 \pm 0,08	21,66 \pm 0,08
I	5,56 \pm 0,09	37,40 \pm 0,69	9,06 \pm 1,6	3,15 \pm 0,07	37,38 \pm 0,41
J	4,97 \pm 0,13	85,43 \pm 5,78	9,71 \pm 0,52	2,50 \pm 0,04	34,22 \pm 2,96

As análises químicas dos extractos de solo, obtidos com água da chuva artificial (Tabela 3), para os diferentes locais de amostragem, na mina da Cunha Baixa, mostraram a presença de diversos metais e arsénio em todos os locais, com potencial para serem mobilizados para a fase aquosa do solo. Na globalidade dos solos, verificou-se que os principais elementos solubilizados para a fase aquosa em maior concentração, foram o Al (para todos os solos excepto os dos locais B, D e G), Fe (para os solos dos locais A, C, E, H, I e J) e o Ba (para os solos dos locais A, C, D, E e F), sendo provavelmente estes os elementos mais biodisponíveis para as plantas. Em termos de concentrações mais elevadas destes elementos verifica-se que estas ocorrem nos solos C e H (Al, Fe e Ba) e nos solos I e J (Al). No entanto, como foi referido atrás todos estes elementos foram registados em concentrações inferiores aos critérios de qualidade de solo (CQS) disponíveis. Apenas no solo B, a concentração média de urânio extraída do solo (5,980 \pm 0,278 mg/Kg), esteve acima dos CQS ou de valores de toxicidade, compilados por Pereira et al. (2008) e dos quais apenas se reportam neste trabalho, o valor mais baixo e o mais elevado. O solo I apresentou concentrações elevadas de alguns elementos metálicos, nomeadamente Ba, Zn, Mn e Al, o que no caso dos três últimos pode estar associado à própria constituição geológica da zona. A análise de

variância multivariada (MANOVA) demonstrou a existência de diferenças significativas entre locais, no que concerne às concentrações de metais extraídas do solo (Pillai's Trace=7,915; d.f.=144; p=0,000). As análises univariadas efectuadas para cada um dos elementos metálicos (Tabela 2), demonstraram o papel preponderante do urânio e do estrôncio nas diferenças significativas entre locais. Estes elementos apresentaram concentrações particularmente superiores em locais próximos da mina, como os locais A e H (U) e os locais B e D (U e Sr) quando comparados com o local I. Na comparação com o local I, o local J é o que apresenta menos diferenças significativas, tendo em conta todos os elementos analisados, pelo que ambos foram considerados como potenciais solos de referência (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados das análises univariadas realizadas para os parâmetros físico- -químicos e para as concentrações de metais extraídas dos solos recolhidos na área mineira da Cunha Baixa.

	F	p	Solos significativamente diferentes do solo I
pH	F=720,627		
Condutividade (µS/cm)	F=4048, 175		
Matéria orgânica (%)	F=142,889	p<0,001	-----
Conteúdo em água (%)	F=1676,119		
Capacidade de retenção da água (%)	F=237,242		
Metais e Metalóides			
Al	F=22,245		A,B,D,E,F,G
As	F=128,631		A,B,C,D,E,F,G,H,J
Be	F=29,596		B,C,D,F
Cd	F=24,937	p<0,001	B,C,E,G
Cu	F=16,376		E,H
Fe	F=11,481		H
Mn	F=29,517		A,B,C,D,E,F,G,H,J
Ni	F=54,799		A,B,F,G
Pb	F=4,089	p=0,004	A,H
Sr	F=3008,756		A,B,C,D,E,F,H,J
U	F=1006,152	p<0,001	A,B,D,H
Zn	F=23,964		A,B,C,D,G,J

Tabela 3 – Concentração de metais extraídos com água da chuva artificial em todos os locais de amostragem da mina de urânio da Cunha Baixa (média \pm STDEV) comparando com a maior e menor CQS (mg/Kg).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	CQS
Be	0,007 \pm 0,003	---	0,001 \pm 0,000	---	0,003 \pm 0,0008	0,009 \pm 0,001	0,050 \pm 0,000	0,007 \pm 0,000	0,005 \pm 0,000	0,003 \pm 0,000	1,1 ^{d3} - 40 ^b
Al	2,681 \pm 2,005	0,565 \pm 0,060	4,681 \pm 1,280	0,927 \pm 0,151	2,715 \pm 0,065	2,453 \pm 0,721	0,547 \pm 0,159	7,017 \pm 1,284	6,373 \pm 0,190	6,578 \pm 0,861	50 ^a - 1000 ^b
Mn	1,234 \pm 0,142	0,023 \pm 0,004	0,179 \pm 0,014	0,035 \pm 0,005	0,165 \pm 0,038	1,768 \pm 0,021	1,556 \pm 0,016	0,670 \pm 0,228	5,682 \pm 1,669	3,461 \pm 0,728	100 ^{d3}
Fe	1,919 \pm 2,064	---	2,381 \pm 0,689	---	1,311 \pm 0,030	0,732 \pm 0,302	---	4,689 \pm 0,710	1,396 \pm 0,140	2,027 \pm 0,311	200 ^{d3} - 3515 ^b
Ni	0,061 \pm 0,005	0,048 \pm 0,008	0,011 \pm 0,010	0,010 \pm 0,005	0,011 \pm 0,002	0,081 \pm 0,003	0,033 \pm 0,003	0,019 \pm 0,008	0,008 \pm 0,000	0,005 \pm 0,008	10 ^a - 280 ^b
Cu	0,064 \pm 0,037	0,046 \pm 0,016	0,042 \pm 0,032	0,019 \pm 0,007	0,087 \pm 0,002	0,024 \pm 0,002	0,012 \pm 0,004	0,144 \pm 0,012	0,036 \pm 0,004	0,027 \pm 0,003	30 ^a - 190 ^{d1}
Zn	0,934 \pm 0,353	0,515 \pm 0,081	0,301 \pm 0,127	0,265 \pm 0,043	1,110 \pm 0,125	1,006 \pm 0,031	0,612 \pm 0,042	1,521 \pm 0,116	1,324 \pm 0,015	0,840 \pm 0,059	50 ^{d3} - 720 ^{d1}
As	0,023 \pm 0,008	---	---	---	0,020 \pm 0,001	---	---	0,015 \pm 0,000	0,059 \pm 0,003	0,015 \pm 0,001	NA
Sr	0,226 \pm 0,134	5,616 \pm 0,082	0,128 \pm 0,025	1,131 \pm 0,022	0,473 \pm 0,012	0,172 \pm 0,009	0,619 \pm 0,023	0,254 \pm 0,002	0,728 \pm 0,028	0,260 \pm 0,011	NA
Cd	0,001 \pm 0,0005	0,000 \pm 0,000	0,0002 \pm 0,000	0,000 \pm 0,000	0,002 \pm 0,000	0,002 \pm 0,000	0,002 \pm 0,000	0,001 \pm 0,000	0,001 \pm 0,000	0,001 \pm 0,000	0,3 ^a - 140 ^b
Ba	1,616 \pm 0,174	0,364 \pm 0,085	2,072 \pm 0,313	1,338 \pm 0,064	1,932 \pm 0,187	1,411 \pm 0,083	1,164 \pm 0,183	2,184 \pm 0,198	2,134 \pm 0,167	1,296 \pm 0,128	NA
Pb	0,017 \pm 0,010	0,003 \pm 0,001	0,015 \pm 0,011	0,003 \pm 0,001	0,005 \pm 0,000	0,009 \pm 0,004	0,002 \pm 0,001	0,016 \pm 0,004	0,004 \pm 0,000	0,010 \pm 0,005	50 ^a - 1700 ^b
U	0,437 \pm 0,121	5,980 \pm 0,278	0,039 \pm 0,007	0,434 \pm 0,011	0,110 \pm 0,019	0,156 \pm 0,038	0,103 \pm 0,023	0,532 \pm 0,073	0,144 \pm 0,017	0,050 \pm 0,007	5 ^{d3} - 100 ^c

3.2. Ensaaios ecotoxicológicos com plantas superiores

Nos ensaios ecotoxicológicos com plantas superiores realizados com as amostras de solo da área mineira, sem diluição, e utilizando o solo LUFA 2.2 (Standard LUFA 2.2, Agricultural Research Centre, Speyer, Germany), como solo de referência para o ensaio, verificou-se que, no caso do milho (*Zea mays* L.) (Figura 4), foram registadas diferenças significativas entre locais no que refere ao número médio de sementes que emergiram (Tabela 4). Contudo, apenas no local A, na zona de exploração subterrânea, se registou uma redução significativa deste parâmetro (2,4 \pm 1,52). Por oposição, nos locais D, F e H o número médio de sementes de milho emergidas foi significativamente superior ao registado no solo LUFA 2.2. De facto, no local D foi registado o mais elevado número médio destas sementes (19,2 \pm 0,84), correspondendo a uma taxa de emergência de 96%.

No que refere ao crescimento foram registadas diferenças significativas em termos de peso fresco e peso seco das plantas entre locais (Tabela 4). No que refere ao peso fresco verificou-se que houve um efeito inibitório significativo deste parâmetro nas plantas expostas a praticamente todos os solos próximos da zona de exploração (A, B, C, E, F, G) (Tabela 4), quando comparadas com as plantas expostas ao solo LUFA 2.2. Contudo, no que refere ao peso seco, apenas se registaram diferenças significativas, entre o solo A e o solo Lufa 2.2. Ainda para esta espécie, nos ensaios com solos não diluídos não foram registadas diferenças significativas entre as plantas do solo de referência LUFA 2.2 (peso fresco: $5,52 \pm 0,51$ g; peso seco: $0,37 \pm 0,03$ g) e as do solo I, para os diferentes parâmetros testados.

Para o solo do local A foram realizados novos ensaios ecotoxicológicos, mas desta vez utilizando o solo do local I como solo de referência (Figura 4). Assim, nestes ensaios onde foi testada uma gama de concentrações (100%, 75%, 50%, 25% e 12,5%, 0%) obtidas por diluição da amostra de solo teste com o solo do local I verificou-se que apenas na concentração de 100%, isto é solo não diluído, se registaram efeitos significativos, relativamente ao solo de referência, em todos os parâmetros testados (Tabela 5). O maior número médio de sementes emergidas ocorreu na concentração de 25% de solo do local A ($17,8 \pm 1,89$), correspondendo a uma taxa de germinação de 89%, e o menor no solo do local A não diluído ($3 \pm 3,37$).

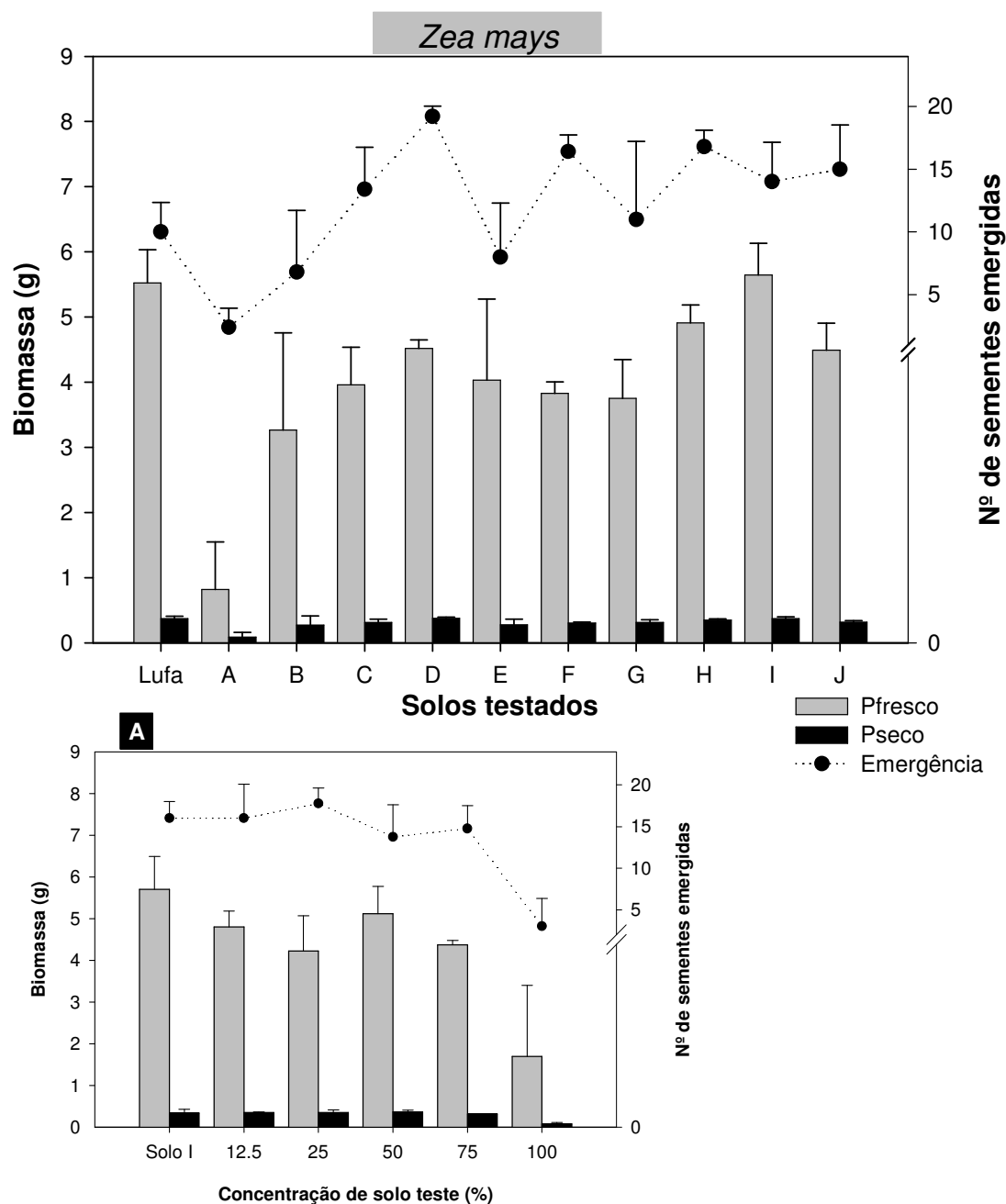


Figura 4. Crescimento (peso fresco e peso seco) e emergência do milho (*Zea mays* L.) nos ensaios realizados com as amostras de solo não diluídas, da área da mina da Cunha Baixa, e com o solo do local A, diluído com solo do local I, utilizado como referência.

Relativamente à alface (*Lactuca sativa* L.) registaram-se diferenças significativas, entre os diferentes locais, no que refere ao número médio de sementes que emergiram (Figura 5, Tabela 4). Assim, de acordo com o teste de Dunnet, o número destas foi

significativamente menor nos solos dos locais B ($3,8 \pm 1,9$) e E ($2,25 \pm 0,5$) quando comparado com o valor registado no solo LUFA 2.2. Por oposição, no local I registou-se um número significativamente superior de sementes a emergirem ($16,6 \pm 2,61$), comparativamente ao solo LUFA 2.2, correspondendo a uma taxa de emergência de 83%. Através da análise de variância (ANOVA) - de uma via (Tabela 4) pode verificar-se a existência de um efeito significativo do solo do local E sobre as plantas a ele expostas, no que refere apenas ao peso fresco das plantas (Tabela 4). O mesmo efeito significativamente inibidor do crescimento foi registado para os solos B e E, no que refere ao peso seco das plantas, por comparação com o solo Lufa 2.2.

Nos ensaios com *Lactuca sativa* e com solo do local B diluído com solo I, não se registaram diferenças significativas no que refere ao número de sementes emergidas nas diferentes concentrações de solo (Tabela 5). O maior número médio de sementes emergidas ocorreu na concentração de 12,5% para o solo B ($19,5 \pm 1,29$), correspondendo a uma taxa de emergência de 97.5%. Por oposição a emergência sofreu uma redução de 13,75% ($16,75 \pm 2,63$) no solo B não diluído, não se registando contudo, diferenças significativas relativamente ao solo I, usado como solo de referência. Da análise dos gráficos da Figura 5 podemos constatar que, para o solo do local B, o peso fresco médio das plantas foi significativamente maior em todas as concentrações (12,5% - 100%) quando comparadas com o solo I ($0,03 \pm 0,01g$) (Tabela 5). O peso fresco médio mais elevado foi registado no solo B não diluído ($0,07 \pm 0,01g$) enquanto o peso seco médio mais elevado se registou no solo com a concentração de 12,5% ($0,005 \pm 0,004g$). Não foram registadas diferenças significativas em termos de peso seco entre as diferentes concentrações de solo B testadas (Tabela 5). Contudo, estes resultados foram contraditórios com os registados no ensaio anterior, no que refere ao solo não diluído, que mostrou inibir o crescimento das plantas.

Relativamente ao solo do local E também não se registaram diferenças significativas no número médio de sementes que emergiram nas diferentes concentrações de solo (Tabela 5). O maior número de sementes emergidas foi registado no solo com a concentração de 12,5% ($20 \pm 0,82$) e a menor no solo I (18 ± 4), correspondendo às taxas de emergência de 100% e 90%, respectivamente. Do mesmo modo as diferentes concentrações deste solo não tiveram efeitos significativos sobre o crescimento das plantas, quando este é avaliado em termos de peso seco (Tabela 5). No que refere ao peso fresco, as concentrações de 50 e 100% do solo E tiveram um efeito estimulador significativo deste parâmetro, em comparação com o solo I (Tabela 5). Assim, as plantas tiveram um crescimento inferior, em termos de peso fresco médio,

quando expostas à concentração de 12,5% ($0,025 \pm 0,003g$) de solo E e um crescimento superior na concentração de 50% ($0,07 \pm 0,01g$).

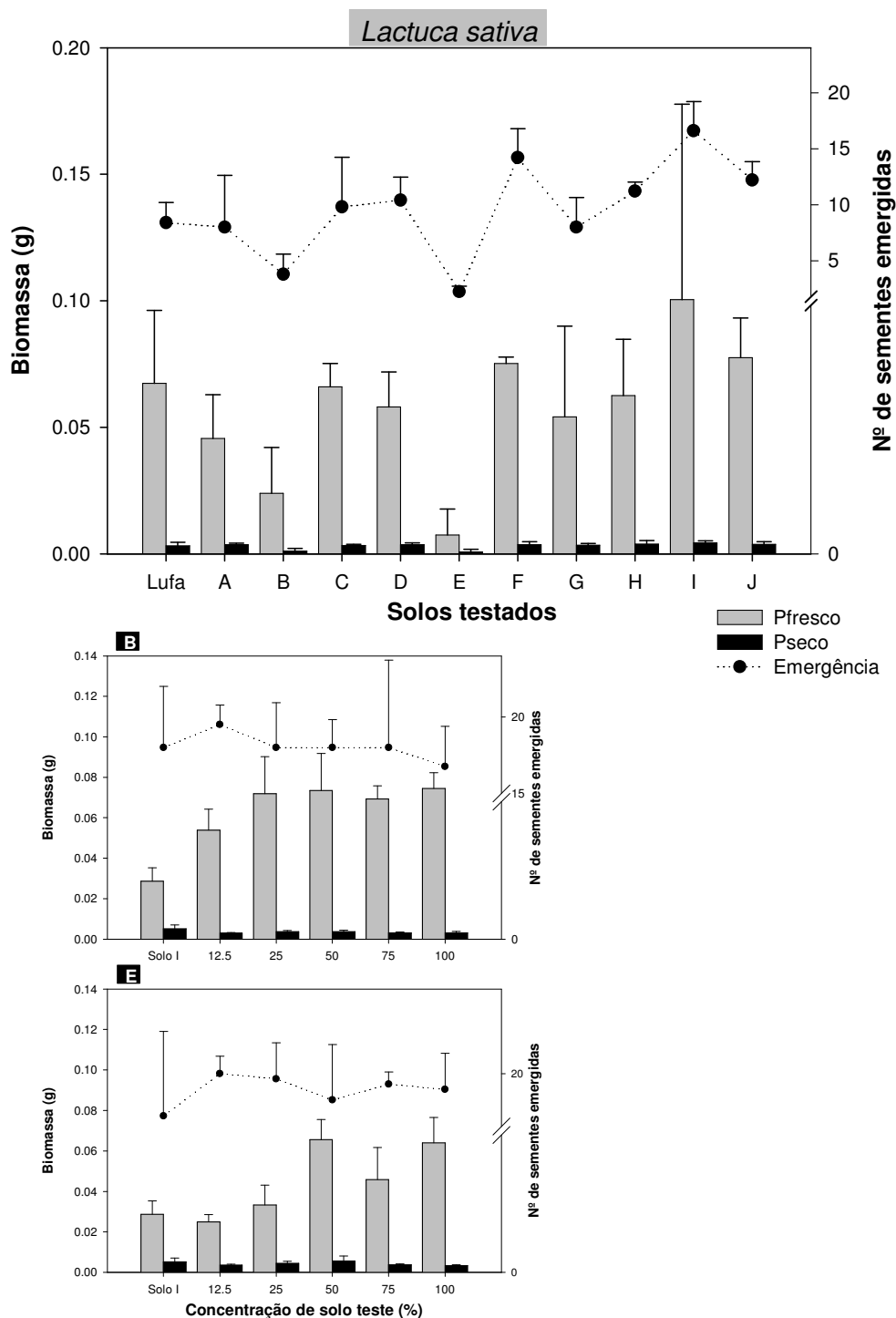


Figura 5. Crescimento (peso fresco e peso seco) e emergência da alface (*Lactuca sativa* L.) nos ensaios realizados com as amostras de solo não diluídas, da área da mina da Cunha Baixa, e com o solo dos locais B e E, diluídos com solo do local I, utilizado como referência.

Tabela 4. Resultados das análises de variância (ANOVA) - de uma via, seguidas de um teste de Dunnet, realizadas para testar a existência de diferenças significativas nos parâmetros avaliados [emergência e crescimento (peso fresco e peso seco)] em plantas expostas aos diferentes solos recolhidos na área da mina da Cunha Baixa, sem diluição, e ao solo LUFA 2.2 utilizado como referência.

	<i>Lactuca sativa</i> L.				<i>Zea mays</i> L.		
	ANOVA	d.f.=10	F=12,917	p<0,001	d.f.=10	F=10,797	p<0,001
Emergência	Solos com diferenças significativas p<0,050	B, E, I			A, D, F, H		
Peso fresco	ANOVA	d.f.=10	F=3,658	p=0,001	d.f.=10	F=16,162	p<0,001
	Solos com diferenças significativas p<0,050	E			A, B, C, E, F, G		
Peso seco	ANOVA	d.f.=10	F=5,841	p<0,001	d.f.=10	F=9,280	p<0,001
	Solos com diferenças significativas p<0,050	B, E			A		

Tabela 5. Resultados da análise de variância (ANOVA) – de uma via, seguidas de um teste de Dunnet, realizadas para testar a existência de diferenças significativas nos parâmetros avaliados [emergência e crescimento (peso fresco e peso seco)] em plantas expostas a diferentes concentrações dos solos A, B e E, diluídos com solo do local I.

	<i>Lactuca sativa</i> L.		<i>Zea mays</i> L.		
	Locais de amostragem	B	E	A	
Emergência	ANOVA	d.f.= 5 F= 0,423 p=0,827	d.f.=5 F= 0,432 p=0,820	d.f.= 5	F=11,770 p<0,001
	Concentrações com diferenças significativas p<0,050	—	—	100%	
Peso fresco	ANOVA	d.f.=5 F=8,440 p<0,001	d.f.=5 F=11,543 p<0,001	d.f.=5	F=9,653 p<0,001
	Concentrações com diferenças significativas p<0,050	12,5% 25% 50% 75% 100%	50% 100%	100%	
Peso seco	ANOVA	d.f.=5 F=0,853 p=0,530	d.f.=5 F=0,882 p=0,513	d.f.=5	F=5,405 p=0,003
	Concentrações com diferenças significativas p<0,050	—	—	100%	

4. Discussão

A existência de esquemas de análise de risco de locais contaminados, ainda não se traduziu numa aplicação extensiva deste processo em muitos países Europeus. Este estudo, em paralelo com os trabalhos de Antunes et al. (2008), Pereira et al. (2008), Niemeyer et al., in prep., são os primeiros a descrever uma aplicação sistemática dos esquemas europeus de análise de risco, por etapas, a uma mina de urânio abandonada. Todos estes estudos têm procurado introduzir na avaliação em curso espécies terrestres de diferentes níveis tróficos, grupos taxonómicos e com diferentes vias de exposição. Este estudo em particular, teve como objectivo, determinar os possíveis efeitos tóxicos provocados por solos da área envolvente da mina de urânio da Cunha Baixa, na emergência e fases iniciais do crescimento da alface (*Lactuca sativa* L.) e milho (*Zea mays* L.), espécies padrão e comestíveis de plantas terrestres cultivadas na zona. Os ensaios ecotoxicológicos com plantas permitem também avaliar até que ponto a função produtiva do solo está comprometida (Eisentraeger et al., 2004), uma vez que quer a germinação de sementes quer o crescimento das plantas, têm sido reportados como sendo sensíveis à presença de metais pesados nos solos (Pedersen et al., 2000; Athar e Ahmad, 2001; An et al., 2004; An, 2006; Vandenhove et al. 2006; Rombke et al., 2007) e às próprias propriedades físico-químicas do solo (Boularbah et al., 2006; Dayton, 2006; Gorsuch et al., 2006; Rooney et al., 2006). Contudo, e apesar de as plantas superiores serem vastamente recomendadas para integrarem a bateria de espécies usadas para a avaliação ecotoxicológica de solos contaminados (Fairbrother et al., 1999; Eisentraeger et al., 2004) a sua aplicação tem sido mais frequente na monitorização de acções de remediação de solos contaminados, através sobretudo de ensaios de germinação de sementes (Van Gestel et al., 2001; Plaza et al., 2005).

No que refere à área da mina de urânio da Cunha Baixa, e como já havia sido descrito por Pereira et al. (2008), os solos dos diferentes locais de amostragem, revelaram possuir propriedades físico-químicas significativamente diferentes, sendo a condutividade, o pH e o conteúdo em água, os principais factores responsáveis por estas diferenças. Do mesmo modo os solos amostrados foram significativamente diferentes em termos de contaminação com metais. O urânio e o estrôncio revelaram ser os elementos com um papel preponderante nas diferenças registadas, sendo o urânio particularmente elevado nos extractos de solo A, B, D e H e o estrôncio nos solos B e D. O urânio foi o único elemento registado em concentrações superiores a critérios de qualidade de solo, no solo B. Contudo, e embora apresentando reduzidas concentrações, outros elementos foram encontrados nos extractos de solo obtidos com água da chuva artificial o que

sugere que a ocorrência do fenómeno atmosférico precipitação pode contribuir para a solubilização de metais para a fase aquosa dos solos da área da mina da Cunha Baixa, contribuindo para um aumento da sua fitodisponibilidade.

Nos ensaios realizados com as amostras de solo da área mineira sem diluição, utilizando o solo LUFA 2.2 (Standard LUFA 2.2, Agricultural Research Centre, Speyer, Germany), como solo de referência para o ensaio, verificou-se que no caso do milho (*Zea mays* L.) só o solo do local A, localizado na zona de exploração subterrânea, utilizada posteriormente para lixiviação *in situ* de minério pobre, provocou efeitos significativos na emergência e crescimento (peso fresco e peso seco) cumulativamente, desta espécie. O solo do local A caracteriza-se por apresentar um pH ácido ($4,81 \pm 0,06$), o mais baixo conteúdo em matéria orgânica ($0,78 \pm 0,06$) o que pode conduzir a uma maior concentração de U e outros metais na fase aquosa do solo (Zheljaskov et al., 2006; Vandenhove et al., 2007a). De facto Pereira et al. (2008) registaram concentrações médias de urânio e alumínio, no extracto de solo do local A, obtido com água da chuva artificial, acima de CQS. Contudo, neste estudo tal facto não se repetiu, mas o solo A esteve entre os que apresentou concentrações mais elevadas de metais de elevada toxicidade, extraíveis para a fase aquosa. Por outro lado os potenciais efeitos sinérgicos da mistura de metais presente não podem ser menosprezados, assim como as propriedades físico-químicas do solo podem também ter tido um papel preponderante na inibição da germinação das sementes e no crescimento da espécie. No segundo ensaio realizado com este solo foi testada uma gama de concentrações (100%, 75%, 50%, 25% e 12,5%) obtidas por diluição da amostra de solo com o solo do local I. Este procedimento baseou-se no pressuposto de que para aumentar a relevância ecológica para o local em avaliação, se deve utilizar um solo de referência natural, proveniente da zona, com características pedológicas semelhantes aos solos locais contaminados (Gorsuch et al., 2006). Contudo e tal como foi possível observar pelos resultados obtidos, encontrar solos não contaminados passíveis de serem usados como solos de referência é sempre uma tarefa difícil, na medida em que o solo I, considerado como potencial solo de referência apresentou concentrações elevadas de alguns elementos, quando comparado com os restantes solos em análise. Não obstante tal facto, o solo I continuou a ser seleccionado como um solo de referência pelo facto de não ter sido registada fitotoxicidade deste solo para ambas as espécies de plantas testadas (milho e alface); não terem sido registados efeitos tóxicos sub-letais para *Eisenia andrei*, por Antunes et al. (2008) e, não terem sido registadas concentrações de metais extraíveis do solo I, acima de critérios de qualidade (Pereira et al., 2008). Assim e relativamente aos

parâmetros considerados (emergência, peso fresco e peso seco), apesar de ter havido uma redução na produção de biomassa fresca, em todas as concentrações testadas, apenas se registou uma inibição significativa de todos os parâmetros na concentração de 100%, isto é no solo A não diluído, quando comparado com o solo I. Este facto não só confirma os resultados do ensaio preliminar, como vem comprovar que, pelo menos para esta espécie, a mistura da camada de solo superficial no local A, com um solo não contaminado, seria suficiente para reduzir a sua fitotoxicidade. Esta constatação é ainda corroborada pelo facto de este solo não ter tido efeitos tóxicos sobre a espécie *Lactuca sativa*. Contudo, para este efeito, e para que estas recomendações pudessem ser dadas com menor grau de incerteza, muitas outras espécies teriam que ser testadas, incluindo sobretudo espécies arborícolas, na medida em que a resposta das plantas aos metais depende também de cada espécie (Boularbah e tal., 2006; Làzaro et al., 2006; Rooney et al., 2006).

Quando analisamos os resultados obtidos com a alface (*Lactuca sativa* L.), nos ensaios com solos não diluídos, verifica-se que o solo do local E foi o único a afectar significativamente a emergência das sementes e a produção de biomassa (peso fresco e peso seco). O solo do local B provocou efeitos na produção de biomassa mas apenas em termos de peso seco. De facto, a emergência de sementes tem sido apontada por diversos autores como não sendo o melhor parâmetro para avaliar a toxicidade de solos, comparativamente ao crescimento (e.g. An, Y-J, 2006; Chung et al., 2007; Eom et al., 2007). Os resultados obtidos para a emergência neste estudo são consistentes com os de Wierzbicka e Obidzińska (1998) que testaram os efeitos de alguns metais pesados na germinação de diferentes espécies de plantas entre as quais o milho e a alface, onde verificaram que os tegumentos das sementes são permeavelmente selectivos, dependendo da espécie, e que protegem os embriões dos efeitos potencialmente tóxicos. No caso do milho constataram que apesar de o tegumento permitir a passagem dos metais testados quando em concentrações elevadas, apenas se encontravam vestígios dos metais nas camadas mais superficiais do embrião, não afectando significativamente a germinação. Já no caso da alface não encontraram vestígios dos metais no embrião e assim, também nesta espécie não ocorreram efeitos significativos na germinação. Os resultados obtidos nos ensaios com solos diluídos foram de certa forma contraditórios, na medida em que os efeitos significativos registados em todas as concentrações do solo B foram estimulatórios e não inibitórios, comparativamente ao solo I, utilizado como referência. Mais uma vez foi possível verificar que as propriedades físico-químicas dos solos têm um papel preponderante na viabilidade das espécies vegetais, e que o solo I

pode não ser o mais apropriado para o desenvolvimento da espécie *Lactuca sativa*. Este facto vem complicar ainda mais a utilização de solos de referência naturais nas avaliações ecotoxicológicas, uma vez que um solo que se apresenta como favorável para o desenvolvimento de uma espécie terrestre poderá não o ser para outra. Contudo, por outro lado não sabemos bem qual o potencial efeito dos radionuclídeos e das radiações por eles emanadas no crescimento dos seres vivos, na medida em que alguns autores têm reportado os efeitos estimulatórios que baixos níveis de radiação têm no crescimento de seres vivos (Stebbing, 1982). De facto, Pereira et al. (2008) registou um valor médio de radioactividade relativa elevado no local B (850 ± 349 choques/s). E ainda que o nível de radiação seja extremamente reduzido em laboratório, em que as plantas são expostas a uma massa reduzida de solo, o solo do local B em particular é extremamente rico em radionuclídeos, pois é neste local que são depositadas as lamas resultantes do tratamento tradicionalmente aplicado ao efluente e que consiste sobretudo na sua neutralização com carbonato de cálcio e na precipitação de radionuclídeos e metais com sulfato/cloreto de bário. Outros locais em análise apresentam igualmente níveis elevados de radioactividade relativa, cujo efeito poderá ter mascarado o efeito tóxico dos metais nesta espécie.

O solo B foi o único a apresentar uma concentração média de urânio extraída com água da chuva artificial ($5,980 \pm 0,278$ mg/Kg), acima dos CQS ou de valores limiares de toxicidade, compilados por Pereira et al. (2008). O U é dos poucos metais pesados cuja biodisponibilidade pode ser aumentada com o elevado valor de pH, pois tal como Vandenhove et al. 2007a, 2007b) referem a transferência do U do solo para a planta é positivamente influenciado por valores de pH acima de 6,9, pois favorece a presença de complexos de urânio solúveis. Mas por outro lado o conteúdo elevado de matéria orgânica pode estar associado com níveis elevados de ácidos húmicos solúveis que podem complexar o U e torná-lo indisponível para as plantas (Vandenhove et al., 2007b). Inaba e Takenaka (2005), demonstraram o papel da matéria orgânica dissolvida (DOM) na fase aquosa dos solos, como os ácidos húmicos, na mitigação da toxicidade do cobre, ao complexarem com este metal reduzindo a sua disponibilidade. De facto o solo B, caracterizou-se por apresentar valores de pH ligeiramente alcalinos, o valor mais elevado de condutividade que se deve à riqueza em complexos iónicos das lamas e um conteúdo em matéria orgânica elevado ($6,5 \pm 0,06\%$) (USEPA, 2004).

Os resultados obtidos para o solo E, são semelhantes aos já discutidos para o solo B, nos ensaios com *Lactuca sativa*, na medida em que se observaram efeitos estimulatórios, em termos de biomassa fresca, nas concentrações de 50 e 100% deste

solo, em oposição ao efeito inibitório do ensaio com solo não diluído. Quando analisamos as características do solo E, verificamos que estas são diferentes das do solo do local B. Assim, este solo é ácido ($5,32 \pm 0,10$), apresenta uma baixa condutividade ($68,20 \pm 8,61 \mu\text{S cm}^{-1}$), conteúdo moderado em matéria orgânica ($4,40 \pm 0,17\%$) e apesar de possuir um elevado conteúdo em água ($10,56 \pm 0,39\%$) tem pouca capacidade de reter ($17,88 \pm 0,86\%$). Este solo não apresenta valores muito elevados dos elementos analisados, salientando-se contudo o Cu, Zn e Ba, que foram registados em concentrações mais elevadas no extracto deste solo. No entanto os valores registados foram sempre inferiores a critérios de qualidade do solo, pelo que não seria de esperar efeitos neste solo, ao contrário do solo B.

Assim os resultados obtidos para a espécie *Lactuca sativa*, neste estudo, foram pouco consistentes, sugerindo a fraca sensibilidade e a reduzida consistência de respostas da espécie, em oposição ao que tem sido reportado por outros autores (e.g. Plaza et al., 2005).

5. Conclusão

Os bioensaios têm sido reportados como uma ferramenta bastante vantajosa na análise de risco ecológico, em virtude do seu carácter integrativo, na medida em que combinam informação sobre a biodisponibilidade de todos os compostos tóxicos e ainda sobre a influência das propriedades físico-químicas do solo (Morgan et al., 2002). Assim, se só a caracterização físico-química fosse considerada, apenas seriam de esperar efeitos nos organismos terrestres expostos ao solo B. De facto estes efeitos foram detectados no primeiro ensaio com *Lactuca sativa*, mas já não ocorreram no segundo ensaio em que, por oposição ao efeito inibitório esperado, foi registado um efeito estimulatório na produção de biomassa fresca. Os mesmos resultados contraditórios foram observados para o solo E. Contudo, para este segundo solo não se esperavam efeitos tóxicos com base na sua caracterização físico-química. Quanto aos ensaios com *Zea mays*, apenas o solo A apresentou fitotoxicidade para a espécie, e os resultados foram consistentes nos dois ensaios realizados mas, apenas o solo não diluído foi responsável pelos efeitos fitotóxicos registados. De acordo com a caracterização físico-química não eram esperados efeitos neste solo, na medida em que não foram registadas concentrações de metais acima de CQS nos extractos obtidos neste estudo. Contudo, Pereira et al. (2008) determinou neste local concentrações elevadas de urânio e alumínio acima de CQS. Os resultados obtidos neste estudo devem ser complementados com

ensaios realizados com mais espécies de plantas superiores, de forma a integrar toda a variabilidade de respostas existente.

Referências bibliográficas

- An, Y-J., Kim, Y-M., Kwon, T-I., Jeong, S-W., 2004. Combined effect of copper, cadmium, and lead upon *Cucumis sativus* growth and bioaccumulation. **Science of the Total Environment** 326: 85 – 93.
- An, Y-J., 2006. Assessment of comparative toxicities of lead and copper using plant assay. **Chemosphere** 62: 1359 – 1365.
- Antunes, S.C., Figueiredo, D.R., Marques, S.M., Castro, B.B., Pereira, R., Gonçalves, F., 2007. Evaluation of water column and sediment toxicity from an abandoned uranium mine using a battery of bioassays. **Science of the Total Environment** 374: 252 – 259.
- Antunes, S.C., B.B. Castro, R. Pereira, F. Gonçalves, 2008. Contribution for tier 1 of the ecological risk assessment of Cunha Baixa uranium mine (Central Portugal): II. Soil ecotoxicological screening. **Science of the Total Environment** 390: 387 – 395.
- Boularbah, A.S.C., Bitton, G., Abouddrar, W., Ouhammou, A., Morel, J.L., 2006. Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. **Chemosphere** 63: 811-817.
- Carvalho, F.P., Madruga, M.J., Reis, M.C., Alves, J.G., Oliveira, J.M., Gouveia, J., Silva, L., 2007. Radioactivity in the environment around past radium and uranium mining sites of Portugal. **Journal of Environmental Radioactivity** 96: 39-46.
- Cattani, I., Fragoulis, G., Boccelli, R., Capri, E., 2006. Copper bioavailability in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) grown in two Italian soils. **Chemosphere** 64: 1972 – 1979.
- Caussy, D., Gochfeld, M., Gurzau, E., Neagu, C., Ruedel, H., 2003. Lessons from case studies of metals: investigating exposure, bioavailability, and risk. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 56: 45 – 51.
- Chapman, P.M., 1990. The Sediment Quality Triad approach to determining pollution-induced degradation Science of the Total Environment 97 (8): 815-825.
- Chung, M.K., Hu, R., Wong, M.H., Cheung, K.C., 2007. Comparative toxicity of hydrophobic contaminants to microalgae and higher plants. **Ecotoxicology** 16: 393 – 402.
- Clemente, R., Walker, D.J., Bernal, M.P., 2005. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): The effect of soil amendments. **Environmental Pollution** 138: 46 – 58.
- Dayton, E.A., Basta, N.T., Payton, M.E., Bradham, K.D., Schroder, J.L. e Lanno, R.P., 2006. Evaluating the contribution of soil properties to modifying lead phytoavailability and phytotoxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry** 25 (3):719-725.

- Eisentraeger, A., Rila, J.-P., Hund-Rinke, K., Rombke, J., 2004. Proposal of a testing strategy and assessment criteria for the ecotoxicological assessment of soil or soil materials. **Journal of Soils and Sediments** 4(2): 123-128.
- Eom, IC, Rast, C, Vber, AM, Vasseur, P, 2007. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 67:190-205.
- Fairbrother A., Glazebrook P.W., Van Straalen N. and Tarazona, J.V., 1999. Test methods for hazard determination of metals and sparingly soluble metal compounds in soils: summary of a SETAC Pellston Workshop. 24 pp.. Ed. by Fairbrother, A.. Society of Environmental Chemistry, SETAC Press, El Escorial, Spain.
- FAOUN. Food and Agriculture Organization of the United Nations - Physical and chemical methods of soil and water analysis. *Soils Bull* 1984; 10: 1-275.
- Gorsuch, J., Merrington, G., Welp, G., Dwyer, R., Hennelly, M., Schoeters, I., 2006. Assessing risks of metals added to soils in Europe and North America. **Environmental Toxicology and Chemistry** 25(3): 631 – 634.
- Gupta, S.K., Vollmer, M.K., Krebs, R., 1996. The importance of mobile, mobilisable and pseudo total heavy metals fractions in soil for three-level risk assessment and risk management. **The Science of the Total Environment** 178: 11-20.
- Inaba, S. e Takenaka, C. 2005. Effects of dissolved organic matter on toxicity and bioavailability of copper for lettuce sprouts. **Environment International** 31: 603-608.
- ISO - International Organization for Standardization, 1995. Soil quality- determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth, Geneva, Switzerland: ISO 11269-1.
- ISO, 2005. Soil quality: avoidance test for testing the quality of soils and the toxicity of chemicals - test with earthworms (*Eisenia fetida*). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Lázaro, J.D., Kidd, P.S., Martinez, C.M., 2006. A phytogeochemical study of the Trás-os-Montes region (NE Portugal): Possible species for plant-based soil remediation technologies. **Science of the Total Environment** 354: 265 – 277.
- Long, E.R., e Chapman, P.M., 1985. A sediment quality triad: measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community composition in Puget Sound. **Marine Pollution Bulletin** 16: 405-415.
- Machado MJC., 1998. Estudo de impacto ambiental em minas abandonadas – comportamento dos metais dissolvidos nas águas da Cunha Baixa e Quinta do Bispo. Secção de Hidroquímica. Instituto Geológico e Mineiro, Lisboa, Portugal.
- ME – Ministério da Economia, 2001. Decreto-Lei nº198-A/2001, de 6 de Julho. Diário da República, Suplemento. Número 155. I-Série A: 4084-(2)-4084(7).
- ME (Ministério da Economia), MA (Ministério do Ambiente) e MOT (Ministério do Ordenamento do Território), 2002. Despacho conjunto nº242/2002, de 5 de Abril. **Diário da República II Série**, 80: 6270-6271.

- Morgan, A. J., Evans, M., Winters, C., Gane, M., Davies, M. S. Assaying the effects of chemical ameliorants with earthworms and plants exposed to a heavily polluted metalliferous soil. **European Journal of Soil Biology** 38 (3-4): 323-327.
- Pedersen, M.B., Kjær, C., Elmegaard, N., 2000. Toxicity and Bioaccumulation of Copper to Black Bindweed (*Fallopia convolvulus*) in Relation to Bioavailability and the Age of Soil Contamination. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 39: 431 – 439.
- Pedrosa M.Y., Martins H.M.L., 1999. Hidrogeologia da Mina da Cunha Baixa – Estudo Preliminar. Estudo de Impacto Ambiental em Minas Abandonadas. Instituto Geológico e Mineiro, Lisboa, Portugal.
- Pereira, R., Antunes, S.C., Marques, S.M., Gonçalves, F., 2008. Contribution for Tier I of the Ecological Risk Assessment of Cunha Baixa uranium mine (Central Portugal): I soil chemical characterization. **The Science of the Total Environment** 390: 377-386.
- Plaza, G., Nałęcz-Jawecki, G., Ulfing, K., Brigmon, R. L., 2005. The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. **Chemosphere** 59: 289-296.
- Römbke, J., Jänsch, S., Junker, T., Pohl, B., Scheffczyk, A., eSchallnaß, H.-J., 2007. The effect of tributyltin-oxide on earthworms, springtails and plants in artificial and natural soils. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 52: 525-534.
- Rooney, C.P., Zhao, F.-J., McGrath, S.P., 2006. Soil factors affecting the expression of copper toxicity to plants in a wide range of European soils. **Environmental Toxicology and Chemistry** 25(3): 726-732.
- SPAC. Soil and Plant Analysis Council - Handbook of Reference Methods. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2000.
- Stebbing, A.R.D., 1982. Hormesis - The stimulation of growth by low levels of inhibitors. **Science of the Total Environment**. 22: 213-234.
- USEPA, 2004. United States Environmental Protection Agency - Framework for Inorganic Metals Risk Assessment. Draft EPA/630/P-04/068B. Washington DC 20460.
- Wierzbicka, M., Obidzińska, J., 1998. The effect of lead on seed imbibitions and germination in different plant species. **Plant Science** 137: 155 – 171.
- Zheljaskov, V.D., Craker, L.E., Xing, B, 2006. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. **Environmental and Experimental Botany** 58: 9-16.
- Van Assche, F. Alonso, J.L., Kapustka, L.A., Petrie, R., Stephenson, G.L., Tossel, R., 2002. Terrestrial Plant Toxicity Tests. In Test Methods to determine hazards of sparingly soluble metal compounds in soils. Ed. By Fairbrother, A., Glazebrook, P.W., van Straalen, N.M. and Tarazona, J.V. SETAC Press, USA.
- Vandenhove, H., Cuypers, A., Van Hees, M., Koppen, G., Wannijn, J., 2006. Oxidative stress reactions induced in beans (*Phaseolus vulgaris*) following exposure to uranium. **Plant Physiology and Biochemistry** 44: 795 – 805.

- Vandenhove, H., Van Hees, M., Wouters, K., Wannijn, J., 2007a. Can we predict uranium bioavailability based on soil parameters? Part 1: Effect of soil parameters on soil solution uranium concentration. **Environmental Pollution** 145: 587 – 595.
- Vandenhove, H., Van Hees, M., Wouters, K., Wannijn, J., 2007b. Can we predict uranium bioavailability based on soil parameters? Part 2: Soil solution uranium concentration is not a good bioavailability index. **Environmental Pollution** 145: 577 – 586.
- Van Gestel, C.A.M., van der Waarde, J.J., Derksen, J.G.M., van der Hoek, E.E., Veul, M.F.X.W., Bouwens, S., Rusch, B. e Kronenburg, R., 2001. The use of acute and chronic bioassays to determine the ecological risk and bioremediation efficiency of oil polluted soils. **Environmental Toxicology and Chemistry** 20(7): 1438-1449.
- Xiong, Z.-T., Zhao, F., Li, M., 2006. Lead Toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr.: Effect on Nitrate Assimilation and Growth. **Environmental Toxicology** 147 – 153.
- Zar, J.H., 1999. Biostatistical Analysis. 4th Ed. Prentice Hall Inc. Upper Saddle River New Jersey.

Capítulo 2. Bioacumulação de metais numa espécie de fungo comestível (*Macrolepiota procera*) proveniente de uma mina de urânio.

Resumo

No âmbito da análise de risco ecológico em curso, para a mina de urânio da Cunha Baixa (Mangualde, Centro de Portugal) efectuou-se um estudo que teve como objectivo avaliar a bioacumulação de metais pesados numa espécie de cogumelo vulgarmente chamado tortulho, [*Macrolepiota procera* (Scop ex.Fr.)], o qual é bastante apreciado e consumido pelas populações locais, podendo ser uma importante via de exposição humana. Assim, para o efeito, amostras de cogumelos recolhidas em cinco locais da área da mina da Cunha Baixa sofreram um processo de digestão ácida e foram posteriormente analisadas por espectrofotometria de plasma acoplado induzido (ICP-MS), para determinação das concentrações de metais pesados acumuladas. Ao analisarmos as concentrações dos vários elementos extraídos dos cogumelos ficou evidente a grande capacidade que os corpos frutuosos dos cogumelos têm de acumular metais pesados. Contudo, a distribuição dos elementos metálicos não é homogénea sendo que o Be, Ni e U apresentaram concentrações mais elevadas no pé, enquanto que o Cd e Zn apresentaram concentrações superiores no chapéu. Este estudo veio comprovar que os solos dos locais I e J podem ser utilizados como solos de referência, uma vez que os cogumelos aí recolhidos registaram as concentrações mais baixas de metais pesados, enquanto que os cogumelos recolhidos nos locais B, E e F apresentaram uma maior bioacumulação para a grande maioria dos elementos extraídos (Be, Mn, Al, Ni, Cd e U). Por outro lado, este estudo trouxe uma preocupação em termos de risco para a saúde humana, uma vez que os limites referenciados por lei para o Cd, Pb, As e Ni foram largamente ultrapassados, tornando evidente que é necessário que se estabeleçam limites das concentrações dos vários elementos permitidas por espécie.

Palavras chave: minas de urânio, metais, bioacumulação, cogumelos comestíveis, *Macrolepiota procera*

1. Introdução

Os cogumelos são estruturas macroscópicas produzidas por alguns fungos durante a reprodução sexuada e que têm a função de produção, protecção e dispersão dos esporos. A parte visível dos cogumelos é designada por carpóforo ou corpo frutoso e é constituída pelo pé e pelo chapéu, sendo neste que se encontra o esporófito onde se formam os esporos (Kalač e Svoboda, 2000). Os fungos capazes de produzir estas frutificações pertencem aos grupos Ascomycotina e Basidiomycotina da Divisão Amastigomycota. Os cogumelos desempenham um papel importante nos ecossistemas pois são capazes de biodegradar o substrato e assim utilizar os desperdícios da produção agrícola, contribuindo para o equilíbrio (Turkecul et al., 2004). Ao longo do tempo os cogumelos comestíveis têm assumido um papel cada vez mais importante quando há preocupações com dietas saudáveis, uma vez que este grupo de alimentos é rico nutricionalmente pois os seus corpos frutuosos contêm elevadas quantidades de proteínas e sais minerais e apresentam um baixo teor em gorduras. Na região da Beira Alta, nomeadamente na zona onde se localiza a mina da Cunha Baixa, é muito frequente e típico incluir na dieta este tipo de fungos muito apreciados pelo seu sabor. A sua recolha é efectuada nos meses de Outubro e Novembro de forma tradicional e sem qualquer controlo sobre a qualidade dos espécimes recolhidos. Esta situação levanta um problema uma vez que os corpos frutuosos dos cogumelos têm a capacidade de acumular elevadas concentrações de metais pesados, sendo mesmo superior à que ocorre nas plantas e que pode ser resultado de um mecanismo muito efectivo que permite aos fungos captar rapidamente os metais pesados do solo (Michelot et al., 1998; Tüzen et al., 1998b; Demirbas, 2000; Kalač e Svoboda, 2000; Svoboda et al., 2000; Demirbas, 2001; Falandysz et al., 2001; Demirbas, 2002; Alonso et al., 2003; Tüzen, 2003; Řanda e Kučera, 2004; Turkecul et al., 2004; Soylac et al., 2005; Cocchi et al., 2006) e nos solos circundantes da mina da Cunha Baixa as concentrações de metais pesados como o U, Fe, Al, Mn, Zn, Co, Ni, Be, Cu e Cd são elevados, encontrando-se em alguns casos acima de critérios de qualidade (Pereira et al., 2008). O problema acentua-se quando se verifica que a bioacumulação de alguns metais pesados aumenta com o aumento das concentrações desses metais no solo (Tüzen et al., 1998a; Demirbas, 2000; Demirbas, 2002) e que há dados relativos à elevada bioacumulação de urânio quando comparada com a das plantas (Mietelski et al., 2002; Baeza e Guillén, 2006). Também é sabido que diferentes partes do corpo frutoso possuem diferente capacidade para acumular alguns elementos (Thomet et al., 1999; Kalač e Svoboda, 2000; Svoboda et al., 2000; Riina et

al., 2006), o que poderá estar relacionado com a distribuição dos elementos essenciais no próprio corpo frutoso. Assim, estudos revelam existir diferenças na bioacumulação de Cd, Pb, e As (superior no chapéu) e Ni (superior no pé) para a espécie *Macrolepiota procera* (Scop ex.Fr.) (Riina et al., 2006). As espécies comestíveis podem assim constituir uma adicional via de exposição humana, levantando questões de saúde pública, existindo estudos em que as concentrações de metais pesados nos corpos frutuosos dos cogumelos excedem os limites impostos (Michelot et al., 1998; Tüzen et al., 1998b; Demirbas, 2000; Falandysz et al., 2001; Rudawska e Leski, 2005; Cocchi et al., 2006; Svoboda et al., 2006; Riina et al., 2006). A capacidade de acumular metais pesados é diferente consoante a espécie (Kalač e Svoboda, 2000; Alonso et al., 2003; Řanda e Kučera, 2004; Turkekul et al., 2004), tendo-se verificado que a espécie *Macrolepiota procera* (Scop ex.Fr.) (Divisão Amastigomycota, Subdivisão Basidiomycotina ou Basidiomycetes) como espécie saprófita é importante bioacumuladora de metais pesados (Svoboda et al., 2000; Demirbas, 2001; Alonso et al., 2003; Cocchi et al., 2006; Riina et al., 2006). Sendo uma das espécies mais consumida na região é ideal para determinar a bioacumulação de metais pesados e assim inferir sobre a potencial transferência de elementos metálicos na cadeia trófica e avaliar a exposição humana no caso da mina da Cunha Baixa. Pode também funcionar como bioindicadora ou indicar se o local é ou não poluído e ser utilizada na monitorização de poluição ambiental o que tem sido recomendado por diversos autores (Aruguete et al., 1998; Kalač e Svoboda, 2000; Svoboda et al., 2000; Řanda e Kučera, 2004; Baeza e Guillén, 2006) e que constitui o objectivo deste estudo.

2. Material e Métodos

2.1. Local de amostragem de exemplares de *Macrolepiota procera* (Scop ex.Fr.)

Os exemplares de cogumelos comestíveis da espécie *Macrolepiota procera* (Divisão Amastigomycota, Subdivisão Basidiomycotina ou Basidiomycetes) foram recolhidos nos meses de Outubro e Novembro de 2005 (Figura 1), em 5 locais de amostragem na mina da Cunha Baixa (Mangualde, Centro de Portugal). Os locais de amostragem foram identificados pelas letras B, E, F, I e J, de acordo com a distância à zona de exploração da mina (Figura 2). Assim o local B localizava-se na zona de exploração subterrânea numa área actualmente utilizada para a deposição de lamas provenientes da lagoa de tratamento do efluente mineiro; o local E foi seleccionado na área envolvente à mina junto a terrenos de cultivo; o local F num pinhal onde até há

pouco tempo o efluente tratado escorria para um pequeno ribeiro; o local I junto a uma lagoa que se formou na zona de exploração a céu aberto, mas que foi abandonada devido à pobreza do minério extraído, e que actualmente se encontra cheia com água não contaminada, por acção da precipitação (Antunes et al., 2007), tendo sido por isso considerada como uma lagoa de referência e, por último, o local J numa floresta mista de pinheiros e carvalhos, localizado a 3km a norte da mina, à entrada da povoação da Cunha Baixa. Os locais de recolha seleccionados dependeram da existência de cogumelos, em estado de maturação adequado, assim como o número de exemplares recolhidos em cada local dependeu da quantidade disponível nesse ano.

Em cada um dos locais descritos foram recolhidas amostras compostas de solo superficial (0-15cm), que foram posteriormente secas, à temperatura ambiente, e crivadas, por um crivo de malha igual a 2mm. A fracção <2mm foi armazenada em sacos de polietileno a 4°C, para posterior utilização nos ensaios de toxicidade com plantas.



Figura 1. Exemplar de *Macrolepiota procera* recolhido na mina da Cunha Baixa.

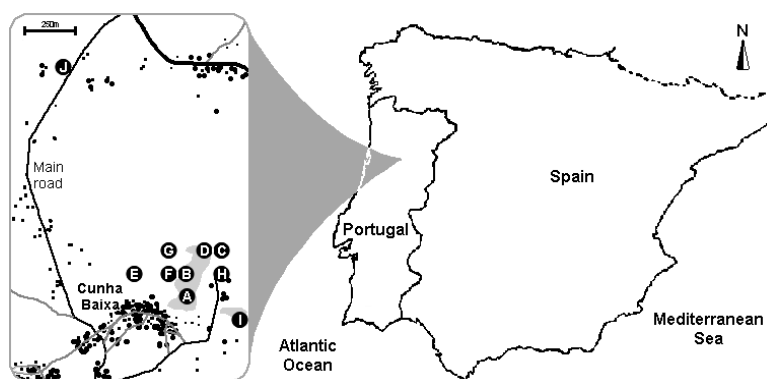


Figura 2 – Localização geográfica da mina de urânio da Cunha Baixa e distribuição dos locais de amostragem.

2.2. Caracterização física e química das amostras de solo

A determinação dos parâmetros físico-químicos foi efectuada em 10 réplicas de solo, recolhidas em cada local de amostragem, que sofreram o mesmo tratamento prévio que amostras recolhidas para os ensaios ecotoxicológicos (ver secção 2.1.). O pH (H_2O) e a condutividade do solo foram determinados numa suspensão solo-água (1:5 m/v) de acordo com o método descrito em FAOUN (1984). Para o efeito, cada réplica de solo (10g) foi suspensa em 50ml de água desionizada, em frascos de polipropileno, e mantida com agitação magnética durante 30min. Terminado este período as misturas foram deixadas a repousar durante 1h após o que o pH da solução sobrenadante foi medido com um medidor de pH pré-calibrado WTW 330/SET-2. A condutividade foi determinada na mesma suspensão, após 24h de repouso, de forma a permitir a deposição do grosso das partículas do solo (FAOUN, 1984), com o medidor de condutividade LF 330/SET. A humidade do solo foi determinado pela perda de peso após secagem a 105°C, durante 24h. E o conteúdo em matéria orgânica foi determinado na amostra seca pela perda de peso após combustão a 450°C durante 8h (SPAC, 2000). A capacidade de retenção de água foi determinada utilizando três réplicas seleccionadas ao acaso para cada local (ISO, 2005). As amostras de solo foram colocadas em frascos de polipropileno que foram posteriormente imersos em água destilada, durante 3 h. Após este período os frascos foram colocados em cima de papel absorvente, durante 2h, de forma a drenarem o excesso de água. A capacidade de retenção de água foi determinada pesando cada réplica antes e depois de secas a 105°C até à estabilização do peso (ISO, 2005).

2.3. Extracção de metais pesados do solo

A extracção de metais do solo foi efectuada com água da chuva artificial, seguindo a metodologia adaptada de Pereira et al. (2008) com o objectivo de simular a biodisponibilização que pode ocorrer em ambiente natural, como resultado do encharcamento do solo por acção da precipitação que sobre ele recai. Para o efeito foram utilizadas 3 réplicas de solo por local de amostragem. Os extractos foram obtidos misturando 15g de solo crivado (fracção <2mm) com 200ml de água da chuva artificial [$NaNO_3$ 4,07 mg/l, $NaCl$ 3,24 mg/l, KCl 0,35 mg/l, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1,65 mg/l, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2,98 mg/l, $(NH_4)_2SO_4$ 3,41 mg/l – (Laegdsmand et al., 1999)]. As misturas foram mexidas duas vezes por dia, com a ajuda de uma vareta de vidro. Após 8 dias as réplicas foram

deixadas a repousar e o sobrenadante de cada réplica foi decantado e posteriormente filtrado, com um filtro Whatman GF/C (45µm de porosidade e 47mm de diâmetro). As amostras filtradas foram acidificadas com ácido nítrico até atingir valores de pH inferiores a 2, de forma a reduzir o fenómeno de adsorção às paredes do recipiente. Para obtenção de brancos dos reagentes seguiu-se exactamente o mesmo procedimento, sem a presença do solo. A determinação de metais nos filtrados e nos brancos foi efectuada por espectrometria de massa com plasma induzido acoplado (ICP-MS).

2.4. Tratamento das amostras para determinação dos níveis de metais bioacumulados

Após a colheita os cogumelos foram armazenados em sacos de plástico e acondicionados numa arca a 4°C, para posterior transporte para laboratório. Já no laboratório, os exemplares foram cuidadosamente lavados com água desionizada, divididos em chapéu e pé, e armazenados em sacos de polietileno, a -20 °C, para posterior análise química.

2.5. Digestão das amostras e análise dos níveis de metais bioacumulados

As amostras de cogumelos conservadas a -20°C, foram descongeladas a 4°C e posteriormente secas a 105°C, até estabilização do peso. O peso seco de cada amostra foi determinado (com uma precisão de 0,0001 g) e as mesmas foram colocadas em frascos de Teflon e digeridas com 3 ml de HNO₃ 65% “Pro-Analysis Merck®”, num banho de areia a 60°C, durante 24 horas. Após este período adicionaram-se aliquotas de 0,5 ml de peróxido de hidrogénio 30% “Pro-Analysis Merck®”, a cada um dos frascos de teflon, para completar a digestão dos resíduos orgânicos. Os produtos da digestão de cada amostra foram posteriormente filtrados por um filtro (25mm de diâmetro e com membrana de acetato de celulose de 0,2 µm de poro) e diluídas com água desionizada para um volume final de 10ml. As concentrações de Al, As, Be, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sr, U e Zn foram determinadas por ICP-MS.

2.6. Tratamento estatístico dos dados

De forma a avaliar a influência dos factores SOLO (solos B, E, F, I e J) e ESTRUTURA DO COGUMELO (chapéu e pé) na bioacumulação de metais foram realizadas análises de variância bifactoriais, para cada um dos elementos metálicos avaliados. De forma a comparar a bioacumulação, no que refere às concentrações de metais, nos pés e nos chapéus nos vários locais de amostragem, foi realizada uma análise de variância multivariada (Zar, 1999). Sempre que se registaram diferenças significativas entre solos, foram efectuados testes de Tukey, de comparações múltiplas, para verificar que solos diferiam entre si no que refere aos elementos bioacumulados.

3. Resultados

3.1. Caracterização físico-química dos solos

A tabela 1 descreve os resultados obtidos para parâmetros físico-químicos avaliados nos solos da área da mina da Cunha Baixa, onde foram recolhidos os cogumelos. Verificou-se que destes solos o mais ácido corresponde ao local mais afastado da área mineira (J, $\text{pH}=4,97\pm0,13$) o que indica que a acidez do solo parece não estar relacionada com a actividade mineira, uma vez que, por outro lado, em B, local de deposição de lamas da lagoa de tratamento do efluente, o pH esteve próximo da neutralidade ($7,76\pm0,07$). Este solo apresentou também o mais elevado valor de condutividade registado ($2280,0\pm0,0 \text{ mS cm}^{-1}$) assim como uma maior capacidade de reter a água, na medida em que foi o que mostrou maior conteúdo em água ($11,77\pm0,0\%$), e uma maior capacidade de retenção da água ($61,16\pm2,76\%$). Destes solos e relativamente ao conteúdo em matéria orgânica, verificou-se que o solo do pinhal que sofre as escorrências da lagoa de tratamento (F), possui um baixo teor em matéria orgânica ($<2\%$). No local E (perto de terrenos de cultivo), o teor em matéria orgânica do solo revelou ser intermédio ($2\%\leq \text{MO} <6\%$) e nos locais B (na zona de exploração), I e J (locais de referência) o conteúdo em matéria orgânica foi elevado ($\geq 6\%$). Esta classificação baseia-se na apresentada em USEPA (2004).

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos registados nos solos onde foram recolhidos cogumelos da área mineira da Cunha Baixa. (média \pm DEVP).

	pH	Condutividade (mS cm ⁻¹)	Conteúdo em matéria orgânica (%)	Conteúdo em água (%)	Capacidade de retenção da água (%)
Locais de amostragem					
B	7,76 \pm 0,07	2280,0 \pm 0,0	6,5 \pm 0,06	11,77 \pm 0,0	61,16 \pm 2,76
E	5,32 \pm 0,10	68,20 \pm 8,61	4,40 \pm 0,17	10,56 \pm 0,39	17,88 \pm 0,86
F	6,56 \pm 0,05	233,33 \pm 5,77	1,16 \pm 0,14	1,25 \pm 0,15	24,13 \pm 0,72
I	5,56 \pm 0,09	37,40 \pm 0,69	9,06 \pm 1,6	3,15 \pm 0,07	37,38 \pm 0,41
J	4,97 \pm 0,13	85,43 \pm 5,78	9,71 \pm 0,52	2,50 \pm 0,04	34,22 \pm 2,96

As análises químicas dos extractos de solo, obtidos com água da chuva artificial (Tabela 2), para os locais onde foram recolhidos cogumelos, na mina da Cunha Baixa, mostraram a presença de diversos metais e arsénio em todos os locais, com potencial para serem mobilizados para a fase aquosa do solo. Na globalidade dos solos, verificou-se que os principais elementos solubilizados para a fase aquosa em maior concentração, foram o Al (para todos os solos excepto o do local B) e o Fe (para os solos dos locais E, I e J), sendo provavelmente estes os elementos mais biodisponíveis para os cogumelos. No entanto, todos estes elementos foram registados em concentrações inferiores aos critérios de qualidade de solo (CQS) disponíveis. Apenas no solo B, a concentração média de urânio extraída do solo (5,980 \pm 0,278 mg/Kg), esteve acima dos CQS ou de valores de toxicidade, compilados por Pereira et al. (2008) e dos quais apenas se reportam neste trabalho, o valor mais baixo e o mais elevado. O solo I apresentou concentrações elevadas de alguns elementos metálicos, nomeadamente Zn, Fe, Mn e Al, o que pode estar associado à própria constituição geológica da zona. No solo J, os elementos presentes em maior concentração foram o Al, Mn e Fe, no solo F, o Al, Mn e Zn, no solo E o Al, Fe e Zn e no solo B o Sr e U.

Tabela 2 – Concentração de metais extraídos com água da chuva artificial nos locais onde foram recolhidos cogumelos da área mineira da Cunha Baixa (média \pm STDEV) comparando com a maior e menor CQS (mg/Kg).

	B	E	F	I	J	CQS
Al	0,565 \pm 0,060	2,715 \pm 0,065	2,453 \pm 0,721	6,373 \pm 0,190	6,578 \pm 0,861	50a-1000b
As	---	0,020 \pm 0,001	---	0,059 \pm 0,003	0,015 \pm 0,001	NA
Be	---	0,003 \pm 0,0008	0,009 \pm 0,001	0,005 \pm 0,000	0,003 \pm 0,000	1,1d3-40b
Cd	0,000 \pm 0,000	0,002 \pm 0,000	0,002 \pm 0,000	0,001 \pm 0,000	0,001 \pm 0,000	0,3a-140b
Cu	0,046 \pm 0,016	0,087 \pm 0,002	0,024 \pm 0,002	0,036 \pm 0,004	0,027 \pm 0,003	30a-190d1
Fe	---	1,311 \pm 0,030	0,732 \pm 0,302	1,396 \pm 0,140	2,027 \pm 0,311	200d3-3515b
Mn	0,023 \pm 0,004	0,165 \pm 0,038	1,768 \pm 0,021	5,682 \pm 1,669	3,461 \pm 0,728	100d3
Ni	0,048 \pm 0,008	0,011 \pm 0,002	0,081 \pm 0,003	0,008 \pm 0,000	0,005 \pm 0,008	10a-280b
Pb	0,003 \pm 0,001	0,005 \pm 0,000	0,009 \pm 0,004	0,004 \pm 0,000	0,010 \pm 0,005	50a-1700b
Sr	5,616 \pm 0,082	0,473 \pm 0,012	0,172 \pm 0,009	0,728 \pm 0,028	0,260 \pm 0,011	NA
U	5,980 \pm 0,278	0,110 \pm 0,019	0,156 \pm 0,038	0,144 \pm 0,017	0,050 \pm 0,007	5d3-100c
Zn	0,515 \pm 0,081	1,110 \pm 0,125	1,006 \pm 0,031	1,324 \pm 0,177	0,840 \pm 0,093	50d3-720d1

3.2. Bioacumulação de metais pesados

Ao analisarmos a concentração dos metais extraídos dos cogumelos (Tabela 3), verificamos que aqueles cuja bioacumulação foi superior foram: o Al (1226 $\mu\text{g/g}$ no pé em B; 1591 $\mu\text{g/g}$ no pé em E; 1837 $\mu\text{g/g}$ no pé em F), Fe (563,2 $\mu\text{g/g}$ no pé em B; 1050 $\mu\text{g/g}$ no pé em E; 791,0 $\mu\text{g/g}$ no pé em F), Mn (678,4 $\mu\text{g/g}$ em E no pé; 200,5 $\mu\text{g/g}$ no pé em F), Cu (140,3 $\mu\text{g/g}$ no chapéu em I; 99,22 $\mu\text{g/g}$ no chapéu em E), Zn (111,2 $\mu\text{g/g}$ no chapéu em E; 82,55 $\mu\text{g/g}$ no pé em E) e U (151,09 $\mu\text{g/g}$ no pé em E), por ordem decrescente de concentração.

Quando consideramos a bioacumulação nos diferentes locais em valores totais para cada amostra, verificamos que esta é superior nos cogumelos do local E, seguida dos locais F, B, J e I. Se a análise da bioacumulação dos metais for feita local a local onde se recolheram os cogumelos, verificamos que nos locais B, E e F o Al é o que apresenta maior concentração, seguido do Fe e Mn. Os metais que a seguir foram bioacumulados em maior concentração foram o Cu e U em B, Zn e U em E e Zn e Cu em

F. Já nos locais I e J registam-se algumas diferenças. Assim, em I o Cu é o que surge com a maior concentração seguido do Fe, Zn e Al, enquanto em J é o Fe que foi bioacumulado em níveis superiores, seguindo-se depois o Cu, Zn e Al. Diferenças significativas entre os cogumelos recolhidos nos diferentes solos foram registadas para todos os elementos metálicos excepto para o Fe e o Zn (Tabela 4).

Tabela 3 – Concentração de metais ($\mu\text{g/g}$) nas amostras de *Macrolepiota procera* (pé e chapéu) recolhidas em diferentes solos da área mineira da Cunha Baixa.

	B		E		F		I		J	
	Pé	Chapéu	Pé	Chapéu	Pé	Chapéu	Pé	Chapéu	Pé	Chapéu
Al	1226 ± 876	335,2 ± 119	1591 ± 100 5	53,76 $\pm 6,29$	1837 ± 1923	186,27 $\pm 48,0$	16,99 $\pm 0,86$	39,26 $\pm 9,56$	68,89 $\pm 20,8$	33,36 $\pm 3,85$
As	0,61 $\pm 0,33$	0,46 $\pm 0,04$	1,32 $\pm 0,65$	1,03 $\pm 0,66$	1,79 $\pm 0,97$	1,18 $\pm 0,19$	0,96 $\pm 0,30$	1,71 $\pm 0,40$	0,89 $\pm 0,25$	1,19 $\pm 0,15$
Be	1,320 $\pm 0,91$	0,38 $\pm 0,17$	0,53 $\pm 0,28$	0,01 $\pm 0,01$	0,95 $\pm 0,92$	0,10 $\pm 0,04$	0,00 $\pm 0,00$	0,02 $\pm 0,01$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$
Cd	2,28 $\pm 0,74$	4,07 $\pm 0,97$	3,75 $\pm 3,01$	2,17 $\pm 0,45$	1,89 $\pm 0,60$	7,23 $\pm 1,36$	0,08 $\pm 0,04$	0,41 $\pm 0,15$	0,03 $\pm 0,00$	0,16 $\pm 0,02$
Cu	49,41 $\pm 19,7$	68,76 $\pm 22,7$	58,85 $\pm 18,8$	99,22 $\pm 24,6$	31,25 $\pm 3,16$	45,53 $\pm 5,52$	71,56 $\pm 18,8$	140,3 $\pm 45,7$	83,95 $\pm 4,96$	61,75 $\pm 2,51$
Fe	563,2 ± 379	191,4 $\pm 81,5$	1050 ± 643	87,77 $\pm 6,10$	791,0 ± 757	142,6 $\pm 20,5$	57,15 $\pm 4,08$	114,8 $\pm 15,3$	87,34 $\pm 17,7$	97,21 $\pm 7,44$
Mn	184,8 ± 123	51,12 $\pm 14,7$	678,4 ± 435	55,87 $\pm 7,87$	200,5 ± 165	34,54 $\pm 6,79$	11,28 $\pm 0,61$	15,85 $\pm 0,84$	23,69 $\pm 3,46$	12,48 $\pm 0,93$
Ni	3,36 $\pm 2,17$	0,99 $\pm 0,33$	5,28 $\pm 2,96$	0,39 $\pm 0,03$	2,37 $\pm 1,45$	0,65 $\pm 0,07$	0,42 $\pm 0,03$	0,30 $\pm 0,05$	0,36 $\pm 0,01$	0,25 $\pm 0,02$
Pb	0,49 $\pm 0,3$	0,35 $\pm 0,1$	2,36 $\pm 1,2$	2,33 $\pm 0,4$	1,29 $\pm 0,8$	0,28 $\pm 0,1$	0,14 $\pm 0,0$	0,62 $\pm 0,1$	0,61 $\pm 0,1$	1,04 $\pm 0,1$
Sr	3,93 $\pm 3,1$	1,22 $\pm 0,4$	1,39 $\pm 0,5$	0,97 $\pm 0,1$	1,35 $\pm 0,5$	0,82 $\pm 0,1$	0,58 $\pm 0,1$	0,80 $\pm 0,1$	2,06 $\pm 0,1$	1,89 $\pm 0,2$
U	17,11 $\pm 12,3$	3,29 $\pm 1,34$	151,0 9 ± 106	5,44 $\pm 1,34$	30,14 $\pm 15,1$	4,16 ± 144	0,67 $\pm 0,29$	1,10 $\pm 0,27$	0,18 $\pm 0,02$	0,11 $\pm 0,01$
Zn	60,18 $\pm 20,0$	49,51 $\pm 5,14$	82,55 $\pm 18,2$	111,2 $\pm 9,95$	63,39 $\pm 22,8$	63,92 $\pm 8,62$	34,19 $\pm 3,04$	65,67 $\pm 5,23$	48,00 $\pm 4,72$	66,74 $\pm 2,27$

Ainda quando consideramos o local de recolha e com base na tabela 4 podemos verificar que a bioacumulação de Be, Mn, Al, Ni, Cd e U é significativamente inferior nos cogumelos recolhidos nos locais I e J, apontados como potenciais locais de referência em estudos anteriores (Antunes et al., 2008; Pereira et al., 2008). Contudo, no caso do Sr, observou-se o oposto, na medida em que a concentração média registada nos cogumelos recolhidos em J foi superior à dos cogumelos dos locais F e I. No caso do Cu a concentração registada nos cogumelos de I e J é superior à encontrada em F e quando se analisa o caso do Pb verificamos que a bioacumulação foi superior nos cogumelos recolhidos em E quando comparados com todos os outros locais.

Relativamente à estrutura do cogumelo considerada, chapéu e pé, apesar de aparentemente ocorrer uma maior bioacumulação no pé do cogumelo quando comparado com o chapéu, para a maioria dos metais avaliados verificamos que essa diferença é significativa (Tabela 4), apenas no caso do Be, Cd, Ni, U e Zn.

A interacção entre os dois factores (Estrutura do cogumelo *versus* Solo) foi significativa apenas para o Cd e o Pb, o que significa que a comparação entre locais, em termos da biodisponibilidade e bioacumulação destes elementos metálicos, pode ser interpretada de forma diferente consoante a zona e a estrutura do cogumelo utilizada para análise.

Tabela 4. Resultados das análises de variância (ANOVA) bifactoriais efectuadas para cada um dos elementos de forma a avaliar o efeito dos factores SOLO e ESTRUTURA DO COGUMELO, na bioacumulação de cada um dos elementos em exemplares de *Macrolepiota procera* recolhidos em diferentes solos da área da mina da Cunha Baixa. A bold estão registadas as diferenças significativas.

Metais	Chapéu / Pé	Estrutura X Solo		Solos		
	ANOVA	ANOVA	ANOVA	Diferenças Significativas		
				E	I	J
Al	d.f.=1 F=3,276 p=0,074	d.f.=4 F=2,003 p=0,102	d.f.=4 F=11,624 p<0,001	—	B E F	B F
As	d.f.=1 F=0,214 p=0,645	d.f.=4 F=0,855 p=0,495	d.f.=4 F=2,503 p=0,049	—	—	—
Be	d.f.=1 F=5,861 p=0,018	d.f.=4 F=1,160 p=0,335	d.f.=4 F=4,331 p=0,003	—	B	B
Cd	d.f.=1 F=9,028 p=0,004	d.f.=4 F=2,842 p=0,030	d.f.=4 F=23,885 p<0,001		B F	B F
Cu	d.f.=1 F=3,804 p=0,055	d.f.=4 F=1,031 p=0,397	d.f.=4 F=4,995 p=0,001	—	F	F
Fe	d.f.=1 F=0,661 p=0,419	d.f.=4 F=1,398 p=0,243	d.f.=4 F=1,572 p=0,190	—	—	—
Mn	d.f.=1 F=3,221 p=0,077	d.f.=4 F=0,857 p=0,494	d.f.=4 F=7,181 p<0,001	—	B E F	E
Ni	d.f.=1 F=13,357 p<0,001	d.f.=4 F=1,940 p=0,112	d.f.=4 F=4,950 p=0,001	—	B	B
Pb	d.f.=1 F=1,049 p=0,309	d.f.=4 F=2,868 p=0,029	d.f.=4 F=10,543 p<0,001	B F	E	E
Sr	d.f.=1 F=0,996 p=0,322	d.f.=4 F=0,653 p=0,626	d.f.=4 F=4,180 p=0,004	—	—	I F
U	d.f.=1 F=7,205 p=0,009	d.f.=4 F=2,216 p=0,075	d.f.=4 F=9,552 p<0,001	—	E F	B E F
Zn	d.f.=1 F=8,153 p=0,006	d.f.=4 F=1,203 p=0,316	d.f.=4 F=1,945 p=0,111	—	—	—

4. Discussão

No decorrer da análise de risco de locais contaminados com metais a bioacumulação destes elementos nos tecidos de seres vivos deve ser considerada, para melhor se avaliar a sua biodisponibilidade e potencial para a transferência a nível das cadeias tróficas. Além das plantas, nomeadamente as comestíveis (Lagriffoul et al., 1998; Clemente et al., 2005; Remon et al., 2005; Xiong et al., 2006; Lázaro et al. 2006;

Vandenhove et al., 2007b; Boularbah et al., 2006), também os corpos frutuosos de cogumelos devem ser considerados, uma vez que a bioacumulação nestes seres vivos é muito elevada, sendo mesmo superior à que ocorre nas plantas e que pode ser resultado de um mecanismo muito efectivo que permite aos fungos captar rapidamente os metais pesados do solo, sendo, por este motivo, a utilização de cogumelos na monitorização de poluição ambiental recomendada por vários autores (Kalač e Svoboda, 2000; Svoboda et al., 2000; Demirbas, 2002; Alonso et al., 2003; Tüzen, 2003; Řanda e Kučera, 2004; Turkekul et al., 2004; Baeza e Guillén, 2006).

Esta avaliação assume particular importância na área da Mina da Cunha Baixa, uma vez que a espécie *Macrolepiota procera* (Scop ex.Fr.), importante bioacumuladora de metais pesados (Svoboda et al., 2000; Demirbas, 2001; Alonso et al., 2003; Cocchi et al., 2006; Riina et al., 2006), é uma das espécies mais consumida na região, o que a torna ideal para atingir os nossos objectivos: avaliar a biodisponibilidade e subsequente bioacumulação de metais (urânio incluído), permitindo ainda inferir sobre a potencial transferência de elementos metálicos na cadeia trófica e consequente exposição humana.

No que refere às propriedades físico-químicas dos solos dos diferentes locais da área da mina de urânio da Cunha Baixa onde foram recolhidos cogumelos, e como já havia sido descrito por Pereira et al. (2008), existem algumas diferenças, sendo a condutividade, o pH e o conteúdo em água, os principais factores responsáveis por estas diferenças. Do mesmo modo os solos amostrados foram significativamente diferentes em termos de contaminação com metais. Apesar do urânio ser o único elemento registado em concentrações superiores a critérios de qualidade de solo (Tabela 2), outros elementos foram encontrados nos extractos de solo obtidos com água da chuva, embora apresentando valores inferiores a critérios de qualidade de solo, o que sugere que a ocorrência do fenómeno atmosférico precipitação pode contribuir para a solubilização de metais para a fase aquosa dos solos da área da mina da Cunha Baixa, contribuindo para um aumento da sua biodisponibilidade.

Quando comparamos os elementos solubilizados para a fase aquosa com a concentração dos metais extraídos dos cogumelos, verificamos que apesar dos elementos extraídos dos cogumelos atingirem concentrações muito superiores às registadas nos solos e que vem demonstrar a grande capacidade destes seres vivos para bioacumular elementos metálicos (Svoboda et al., 2000; Demirbas, 2002; Alonso et al., 2003; Řanda e Kučera, 2004; Baeza e Guillén, 2006; Riina et al., 2006), verificou-se que os elementos extraídos dos solos em maior concentração (Al e Fe), foram exactamente

os mesmos que apresentaram concentrações mais elevadas nos cogumelos. Do mesmo modo, também se observou correspondência entre os elementos solubilizados em maior concentração para a fase aquosa dos solos E, F, I e J e os que estiveram presentes em maior concentração nos cogumelos recolhidos nestes locais (Al, Fe, Mn e Zn). Tal facto parece estar de acordo com alguns estudos onde se verificou que a bioacumulação de alguns metais pesados aumenta com o aumento das concentrações desses metais no solo (Tüzen et al., 1998a; Demirbas, 2000; Demirbas, 2002). A excepção diz respeito ao local B, onde os principais metais extraídos com água da chuva foram o Sr e o U, enquanto que os acumulados em maior concentração nos cogumelos foram novamente o Al e Fe. No entanto, no caso do Sr, foi nos cogumelos recolhidos em B que se registou a maior concentração deste elemento. Mietelski et al. (2002) reportaram igualmente baixos teores de U na mesma espécie, recolhida em solos contaminados com plutónio na Polónia, o que pode ser indicador da reduzida capacidade de absorver e acumular urânio, da espécie em estudo. Relativamente ao U, verificamos que as concentrações mais elevadas se registaram nos cogumelos recolhidos em E e F. Ao analisarmos as concentrações dos metais bioacumulados (sobretudo: Be, Mn, Al, Ni, Cd e U), nos cogumelos recolhidos nos locais I e J, podemos verificar (Tabela 3; Tabela 4) que estas foram inferiores relativamente às registadas nos cogumelos provenientes dos outros locais de recolha. Estes resultados vão de encontro aos já obtidos noutros estudos e que referem não ter sido registada fitotoxicidade destes solos para ambas as espécies de plantas testadas (milho e alface); não terem sido registados efeitos tóxicos sub-letais para *Eisenia andrei*, por Antunes et al. (2008) e, não terem sido registadas concentrações de metais extraíveis do solo I acima de critérios de qualidade, pelo que vêm reforçar a possibilidade de os elementos metálicos que possam estar presentes nestes locais, terem uma reduzida biodisponibilidade para os organismos terrestres, e os mesmos poderem ser considerados como potenciais locais de referência.

Quando se analisa a Tabela 3 encontram-se evidências da existência de diferenças relativamente à estrutura do cogumelo (chapéu ou pé) de onde se extraíram os vários elementos registados. No caso do Be, Cd, Ni, U e Zn essas diferenças são significativas (Tabela 4), concentrando-se alguns elementos (Be, Ni e o U) sobretudo no pé do cogumelo. Também Riina et al. (2006) registaram valores superiores de Ni no pé para *Macrolepiota procera* (Scop ex.Fr.), mas atingindo concentrações muito inferiores (2,21 mg/Kg) às que se registaram nos locais B, E e F (Tabela 3). No caso do Cd e do Zn a maior concentração regista-se no chapéu (solo F e solo E, respectivamente) o que está de acordo com outros estudos efectuados como o de Riina et al. (2006) em que o Cd

registra valores de 0,87 mg/Kg no chapéu e 0,24 mg/Kg no pé da mesma espécie, mais uma vez valores muito inferiores aos registados nos locais B, E e F (Tabela 3). Também Thomet et al. (1999) registou valores superiores de Cd e Zn no chapéu de cogumelos da mesma família Agaricaceae.

Quando comparamos concentrações registadas noutros estudos de bioacumulação em cogumelos da mesma espécie ou de outras espécies saprófitas, importantes bioacumuladores de metais pesados (Svoboda et al., 2000; Demirbas, 2001; Alonso et al., 2003; Cocchi et al., 2006; Riina et al., 2006) com as encontradas neste estudo, verificamos que obtivemos, em alguns casos, valores muito superiores. Assim, para o Cd temos uma concentração média de 0,59 mg/Kg (Riina et al., 2006), 3,08 mg/Kg (Tüzen et al., 1998b), 2,7–46 mg/Kg e 21-501 mg/Kg (Thomet et al., 1999), 7,72-11,2 mg/kg (Svoboda et al., 2000). Para o Fe encontramos concentrações na literatura entre 70 e 90 mg/Kg (Falandysz et al., 2001) e 87,8 mg/Kg (Tüzen et al., 1998b). No caso do Cu os valores encontrados são de 38,9mg/Kg (Tüzen et al., 1998b), 83-160 mg/Kg (Falandysz et al., 2001), 228-324 mg/Kg (Svoboda et al., 2000) e 235,8mg/Kg no *hymenophore* e 199,9 mg/Kg no resto do corpo frutoso (Alonso et al., 2003). Para o Mn as concentrações variam entre 14 mg/Kg (Falandysz et al., 2001) e 16,2 mg/Kg (Tüzen et al., 1998b). No caso do Zn os valores encontrados na literatura oscilam entre 31,6 mg/Kg (Tüzen et al., 1998b) e 106,8 mg/Kg no *hymenophore* e 78,18 mg/Kg no resto do corpo frutoso (Alonso et al., 2003). Relativamente ao Pb encontramos concentrações na ordem dos 2,5 mg/Kg (Riina et al., 2006) e 29,9-62,4 mg/Kg (Svoboda et al., 2000). Para o As encontramos o valor de 1,13 mg/Kg e para o Ni 1,21 mg/Kg em Riina et al. (2006).

Os valores elevados encontrados neste estudo e que reflectem o facto da espécie *Macrolepiota procera* (Scop ex.Fr.) ser uma espécie saprófita e como tal, importante bioacumuladora de metais pesados (Svoboda et al., 2000; Demirbas, 2001; Alonso et al., 2003; Cocchi et al., 2006; Riina et al., 2006), são mesmo superiores para o Fe, Mn, Zn, As e Ni relativamente a outros estudos já mencionados, indicando deste modo a biodisponibilidade de metais nos locais B, E e F, localizados dentro da área mineira. A elevada bioacumulação de alguns elementos por parte desta espécie comestível muito procurada na área para consumo, levanta ainda mais preocupações em termos de possíveis riscos para a saúde humana, quando consideramos os níveis máximos permitidos de Cd (0,2 mg/kg de peso fresco) e de Pb (0,3 mg/Kg de peso fresco) pela Commission Regulation (EC) nº 466/2001 de 8 de Março e o consumo semanal tolerável de Cd, Pb, As e Ni para um adulto de 60 Kg, recomendados pela FAO/WHO: 0,42mg/Kg para o Cd, 1,50 mg/kKg para o Pb, 0,90 mg/Kg para o As e 2,10 mg/Kg para o Ni (Riina

et al., 2006), uma vez que muitas das concentrações registadas neste estudo, sobretudo nos locais B, E e F, são superiores. Existem outras referências em que as concentrações de metais pesados nos corpos frutuosos dos cogumelos excedem os limites impostos (Michelot et al., 1998; Tüzen et al., 1998b; Demirbas, 2000; Falandysz et al., 2001; Rudawska e Leski, 2005; Cocchi et al., 2006; Riina et al., 2006), evidenciando a necessidade de se estabelecerem medidas que possam impedir o consumo de cogumelos recolhidos dentro da área mineira.

5. Conclusão

A grande capacidade de acumular metais pesados por parte dos corpos frutuosos dos cogumelos, principalmente quando se considera uma espécie saprófita como o *Macrolepiota procera* (Scopp.:Fr.) Singer uma vez que o seu extenso micélio permite uma associação íntima com o solo (Demirbas, 2001; Alonso et al., 2003; Riina et al., 2006; Svoboda et al., 2006), demonstrada neste estudo, conduz a que seja recomendada a sua utilização na monitorização de poluição ambiental (Aruguete et al., 1998; Kalač e Svoboda, 2000; Svoboda et al., 2000; Řanda e Kučera, 2004; Baeza e Guillén, 2006). Contudo, estes não devem ser utilizados como indicadores exactos de metais pesados, mas apenas usar os corpos frutuosos para distinguir locais poluídos com metais pesados de outros não poluídos, uma vez que é necessário proceder a uma amostragem em que o número e a representatividade das espécies estejam asseguradas, assim como a recolha, digestão e análise devem seguir um protocolo padronizado (Gast et al., 1988; Michelot et al., 1998; Kalač e Svoboda, 2000). Ao proceder a novos estudos nesse sentido, e no caso da espécie considerada neste estudo, as diferenças entre as diferentes estruturas não são muito importantes, do ponto de vista de risco para a saúde humana, na medida em que os cogumelos são ingeridos na totalidade.

Este estudo veio comprovar que os solos dos locais I e J podem ser utilizados como solos de referência, quando se proceder a novos estudos integrados na análise de risco ecológico da área da mina da Cunha Baixa, uma vez que os cogumelos aí recolhidos apresentaram as concentrações mais baixas de metais pesados o que dado a capacidade acumuladora destes seres vivos, nos pode indicar as baixas concentrações destes mesmos elementos nestes locais.

Por outro lado, trouxe também uma preocupação em termos de risco para a saúde humana, uma vez que facilmente se ultrapassaram os limites referenciados por lei para o

Cd, Pb, As e Ni, tornando evidente a necessidade de se estabelecerem níveis máximos em termos de consumo, para cada elemento de acordo com o local e a espécie.

Referências bibliográficas

- Alonso, J., García, M.A., Pérez-López, M., Melgar, M.J., 2003. The Concentrations and Bioconcentration Factors of Copper and Zinc in Edible Mushrooms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 44:180-188.
- Antunes, S.C., Figueiredo, D.R., Marques, S.M., Castro, B.B., Pereira, R., Gonçalves, F., 2007. Evaluation of water column and sediment toxicity from an abandoned uranium mine using a battery of bioassays. **Science of the Total Environment** 374: 252 – 259.
- Antunes, S.C., Castro, B.B., Pereira, R., Gonçalves, F., 2008. Contribution for tier 1 of the ecological risk assessment of Cunha Baixa uranium mine (Central Portugal): II. Soil ecotoxicological screening. **Science of the Total Environment** 390: 387 – 395.
- Aruguete, D.M., Aldstadt III, J.H., Mueller, G.M., 1998. Accumulation of several heavy metals and lanthanides in mushrooms (*Agaricales*) from the Chicago region. **The Science of the Total Environment** 224:43-56.
- Baeza, A., Guillén, J., 2006. Influence of the soil bioavailability of radionuclides on the transfer of uranium and thorium to mushrooms. **Applied Radiation and Isotopes** 64: 1020 – 1026.
- Boularbah, A.S.C., Bitton, G., Aboudrar, W., Ouhammou, A., Morel, J.L., 2006. Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. **Chemosphere** 63: 811-817.
- Clemente, R., Walker, D.J., Bernal, M.P., 2005. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): The effect of soil amendments. **Environmental Pollution** 138: 46 – 58.
- Cocchi, L., Vescovi, L., Petrini, L.E., Petrini, O., 2006. Heavy metals in edible mushrooms in Italy. **Food Chemistry** 98: 277 – 284.
- Demirbas, A., 2000. Accumulation of heavy metals in some edible mushrooms from Turkey. **Food Chemistry** 68: 415- 419.
- Demirbas, A., 2002. Metal ion uptake by mushrooms from natural and artificially enriched soils. **Food Chemistry** 78: 89 – 93.
- Falandysz, J., Szymczyk, K., Ichihashi, H., Bielawski, L., Gucia, M., Frankowska, A., Yamasaki, S-I., 2001. ICP/MS and ICP/AES elemental analysis (38 elements) of edible wild mushrooms growing in Poland. **Food Additives and Contaminants** 18(6): 503-513.
- FAOUN. Food and Agriculture Organization of the United Nations - Physical and chemical methods of soil and water analysis. *Soils Bull* 1984; 10: 1-275.
- Gast, C.H., Jansen, E., Bierling, J., Haanstra, L., 1988. Heavy metals in mushrooms and their relationship with soil characteristics. **Chemosphere** 17(4): 789-799.

- ISO, 2005. Soil quality: avoidance test for testing the quality of soils and the toxicity of chemicals - test with earthworms (*Eisenia fetida*). International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Kalač, P., Svoboda, L., 2000. A review of trace elements concentrations in edible mushrooms. **Food Chemistry** 69: 273 – 281.
- Lagriffoul, A., Mocquot, B., Mench, M., Vangronsveld, J., 1998. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). **Plant and Soil** 200: 241 – 250.
- Lázaro, J.D., Kidd, P.S., Martinez, C.M., 2006. A phytogeochemical study of the Trás-os-Montes region (NE Portugal): Possible species for plant-based soil remediation technologies. **Science of the Total Environment** 354: 265 – 277.
- Michelot, D., Siobud, E., Doré, J-C., Viel, C., Poirier, F., 1998. Update on metal content profiles in mushrooms – toxicological implications and tentative approach to the mechanisms of bioaccumulation. **Toxicon** 36(12): 1997-2012.
- Mietelski, J.W., Baeza, A.S., Guillen, J., Buzinny, M., Tsigankov, N., Gaca, P., Jasińska, M., Tomankiewicz, E., 2002. Plutonium and other alpha emitters in mushrooms from Poland, Spain and Ukraine. **Applied radiation and Isotopes** 56: 717-729.
- Pelkonen, R., Alfthan, G., Järvinen, O., 2006. Cadmium, lead, arsenic and nickel in wild edible mushrooms. The Finnish Environment 17, Finish Environment Institute, Helsinki, Finland.
- Pereira, R., Antunes, S.C., Marques, S.M., Gonçalves, F., 2008. Contribution for Tier I of the Ecological Risk Assessment of Cunha Baixa uranium mine (Central Portugal): I soil chemical characterization. **The Science of the Total Environment** 390: 377-386.
- Řanda, Z., Kučera, J., 2004. Trace elements in higher fungi (mushrooms) determined by activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry** 259(1): 99 – 107.
- Remon, E., Bouchardon, J.-L., Cornier, B., Guy, B., Leclerc, J.-C., Faure, O., 2005. Soil characteristics, heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill: Implications in risk assessment and site restoration. **Environmental Pollution** 137: 316 – 323.
- SPAC. Soil and Plant Analysis Council - Handbook of Reference Methods. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2000.
- Svoboda, L., Havlíčková, B., Kalač, P., 2006. Contents of cadmium, mercury and lead in edible mushrooms growing in a historical silver-mining area. **Food Chemistry** 96: 580 – 585.
- Svoboda, L., Zimmermannová, K., Kalač, P., 2000. Concentrations of mercury, cadmium, lead and copper in fruiting bodies of edible mushrooms in an emission area of a copper smelter and a mercury smelter. **The Science of the Total Environment** 246: 61 – 67.
- Thomet, U., Vogel, E., Krähenbühl, U., 1999. The uptake of cadmium and zinc by mycelia and their accumulation in mycelia and fruiting bodies of edible mushrooms. **Eur Food Technol** 209: 317-324.

- Turkekul, I., Elmastas, M., Tüzen, M., 2004. Determination of iron, copper, manganese, zinc, lead, and cadmium in mushrooms samples from Tokat, Turkey. **Food Chemistry** 84:389-392.
- Tüzen, M., Özdemir, M., Demirbas, A., 1998a. Heavy metal bioaccumulation by cultivated *Agaricus bisporus* from artificially enriched substrates. **Z. Lebensm Unters Forsch A** 206: 417 – 419.
- Tüzen, M., Özdemir, M., Demirbas, A., 1998b. Study of heavy metals in some cultivated and uncultivated mushrooms of Turkish origin. **Food Chemistry** 63(2): 247 – 251.
- USEPA, 2004. United States Environmental Protection Agency - Framework for Inorganic Metals Risk Assessment. Draft EPA/630/P-04/068B. Washington DC 20460.
- Vandenhove, H., Antunes, K., Wannijn, J., Duquène, L., Van Hees, M., 2007b Method of diffusive gradients in thin films (DGT) compared with other soil testing methods to predict uranium phytoavailability. **Science of the Total Environment** 373: 542 – 555.
- Xiong, Z.-T., Zhao, F., Li, M., 2006. Lead Toxicity in *Brassica pekinensis* Rupr.: Effect on Nitrate Assimilation and Growth. **Environmental Toxicology** 147 – 153.
- Zar, J.H., 1999. Biostatistical Analysis. 4th Ed. Prentice Hall Inc. Upper Saddle River New Jersey.

Considerações finais

O primeiro capítulo da presente dissertação contribuiu com informação para a linha de evidência ecotoxicológica, nomeadamente sobre a fitotoxicidade dos solos da área mineira da Cunha Baixa, para *Lactuca sativa* e *Zea mays* a ser integrada na análise de risco ecológico em curso para a área mineira da Cunha Baixa. De acordo com os resultados obtidos apenas os solos dos locais A, B e E, revelaram induzir efeitos inibitórios na germinação e no crescimento das espécies testadas. Contudo, os efeitos foram observados apenas nos solos não diluídos, e no caso dos ensaios com *Lactuca sativa* (solos B e E), os mesmos não foram confirmados, nos segundos ensaios realizados. Apenas a fitotoxicidade do solo A (não diluído), se revelou de forma consistente nos ensaios com *Zea mays*. Contudo, quando se realizam ensaios com solos naturais contaminados é extremamente difícil distinguir o papel dos contaminantes (metais) e das propriedades físico-químicas gerais na produção de efeitos tóxicos. Estes dados irão ser integrados no cálculo dos riscos, contudo um exercício prévio efectuado neste sentido por Antunes (2007), integrando informação disponível à data, havia já apontado os locais A e B, como locais de maior risco.

No que refere ao segundo capítulo da dissertação o mesmo contribui para uma nova percepção sobre a biodisponibilidade dos elementos metálicos nos diferentes solos da área mineira. Ao contrário do sugerido por Pereira et al. (2008) com base na caracterização química dos solos, não apenas os locais A e C, parecem possuir concentrações elevadas de metais biodisponíveis, mas também os solos B, E e F. Este facto vem confirmar uma vez mais que a biodisponibilidade dos elementos metálicos não depende apenas das propriedades físico-químicas dos solos e da especiação dos elementos metálicos, mas também de mecanismos/características intrínsecas às diferentes espécies biológicas.

Dados sobre bioacumulação não fazem parte do modelo de TRIAD inicialmente proposto por Long e Chapman (1985) e por Chapman (1990), contudo mais recentemente Chapman e Hollert (2006) propõem exactamente que o modelo de TRIAD, aumente as linhas de evidência de forma a integrar dados de diferentes origens, incluindo os provenientes de estudos de bioacumulação. No caso da informação obtida, a mesma gera preocupações sobre a exposição humana a metais, e possivelmente radionuclídeos através de alimentos produzidos na zona. Em função das elevadas concentrações registadas nos exemplares de *Macrolepiota procera*, recolhidos na área da Cunha Baixa e analisados, devem ser emanadas recomendações que limitem o consumo destes

cogumelos, Adicionalmente, estudos de bioacumulação devem ser efectuados em espécies vegetais, igualmente cultivadas localmente, e de maior consumo.

Referências bibliográficas

- Antunes, S.C., 2007. Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Doutor em Biologia.
- Chapman, P.M., 1990. The Sediment Quality Triad approach to determining pollution-induced degradation. **Science of the Total Environment** 97 (8): 815-825.
- Chapman, P.M. e Hollert, H., 2006. Should the Sediment Quality Triad become a tetrad, a pentad, or possibly even a hexad? **Journal of Soils and Sediments** 6(1): 4-8.
- Long, E.R., e Chapman, P.M., 1985. A sediment quality triad: measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community composition in Puget Sound. **Marine Pollution Bulletin** 16: 405-415.
- Pereira, R., Antunes, S.C., Marques, S.M., Gonçalves, F., 2008. Contribution for Tier I of the Ecological Risk Assessment of Cunha Baixa uranium mine (Central Portugal): I soil chemical characterization. **The Science of the Total Environment** 390: 377-386.